

## КОНСТРУИРОВАНИЕ ЦЕНТРОВ АДСОРБЦИИ ХОЛЕВОЙ КИСЛОТЫ НА ПОВЕРХНОСТИ ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА

Л.А. Белякова, А.М. Варварин, Н.В. Роиц

*Институт химии поверхности Национальной академии наук Украины  
ул. Ген. Наумова 17, 03164 Киев-164*

*Осуществлен непосредственный синтез четвертичных аммониевых групп на поверхности галогеналкилкремнеземов в присутствии триэтиламина. Предложено химическое закрепление четвертичных аммониевых групп на поверхности с помощью реакции сополимеризации между винилкремнеземом и винилбензилтриметиламмоний хлоридом. Изучена адсорбция холевой кислоты в зависимости от времени, pH, ионной силы и концентрации равновесного раствора. Рассчитаны константы ионного обмена, агрегирования и устойчивости для адсорбции холевой кислоты на кремнеземах, модифицированных четвертичными аммониевыми группами. Продемонстрированы преимущества кремнеземных адсорбентов по сравнению с холестирамином, который используется в медицинской практике для регулирования содержания желчных кислот в живом организме.*

*Direct assembly of quaternary ammonium groups onto surfaces of halogenoalkylsilicas in the presence of triethylamine has been realized. Chemical fixation of quaternary ammonium groups by copolymerization reaction between vinylsilica and vinylbenzyltrimethylammonium chloride has been proposed. Adsorption of cholic acid as dependent on duration, pH, ionic strength, and equilibrium concentration has been studied. Constants of ion exchange, aggregation, and stability for adsorption of cholic acid on silicas modified with quaternary ammonium groups have been calculated. Advantages of silica adsorbents over cholestyramine used in medicinal practice for regulation of a content of bile acids in a living body have been demonstrated.*

### Введение

Высокодисперсные аморфные кремнеземы используются в медицине как адсорбенты токсинов различной этиологии, а также для профилактики целого ряда заболеваний [1, 2]. Установлено, что при заболеваниях, сопровождающихся резким изменением содержания холестерина и желчных кислот в организме, применение кремнезема в качестве энтеросорбента улучшает состояние больных и ускоряет наступление выздоровления. С химической точки зрения гидроксильная поверхность кремнезема не должна иметь высокую сорбционную избирательность ни по отношению к гидрофобным органическим соединениям, ни по отношению к органическим кислотам, поскольку адсорбционными центрами поверхности кремнезема являются слабокислотные силанольные группы. Академик А.А. Чуйко предложил группе сотрудников Института химии поверхности НАН Украины заняться выяснением причин такого необычного поведения кремнезема в биологических средах. Основной причиной изменения сорбционной специфичности кремнезема в реальных условиях его применения могло быть, по нашему мнению, одновременное осуществление нескольких

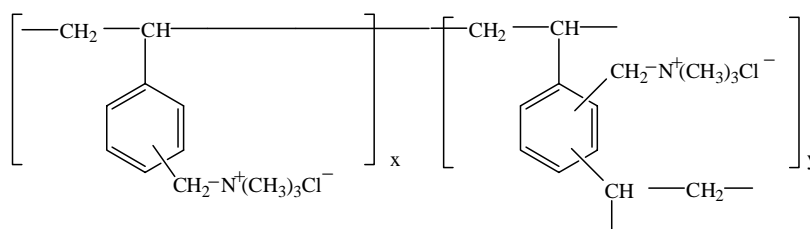
процессов на поверхности гидроксированного кремнезема, в первую очередь, таких, как адсорбция белков и компонентов крови.

Нами было осуществлено химическое моделирование изменения строения и состава поверхности кремнезема с помощью увеличивающейся адсорбции белка на поверхности кремнезема; адсорбции и координационного закрепления порфириновых молекул; уменьшения гидрофильности поверхности кремнезема путем химического закрепления гидрофобных функциональных групп вплоть до покрытия поверхности кремнезема сплошным слоем модификатора; введения в поверхностный слой азотсодержащих функциональных групп, которые присутствуют в белковых молекулах. Модифицированные кремнеземы были исследованы в адсорбции ряда желчных кислот. Полученные результаты подтвердили предположение о том, что при контакте с биологическими жидкостями на поверхности кремнезема, в первую очередь, происходит необратимая адсорбция белков, которую можно рассматривать как процесс модифицирования его поверхности. Адсорбция же желчных кислот осуществляется на кремнеземе, поверхность которого в значительной степени лиофилизирована и модифицирована функциональными группами белковых молекул. Результатом выполненного исследования явился цикл опубликованных и представленных на различных конференциях работ [3 – 26].

В настоящей статье представлены результаты изучения химического модифицирования поверхности кремнезема четвертичными аммониевыми группами как наиболее перспективного для создания кремнеземных адсорбентов желчных кислот.

Желчные кислоты (СА) в человеческом организме продуцируются гепатоцитами (секреторными клетками печени) и являются наиболее важными в количественном отношении продуктами превращения холестерина. Увеличение содержания СА в организме, связанное с нарушением биосинтеза холестерина, вызывает различные заболевания почек, некрозы, брадикардию, гипертонию, изменение активности некоторых ферментов в сыворотке крови и гемолиз [27 – 29].

Для регулирования содержания СА в организме в настоящее время в медицинской практике используются полимерные адсорбенты. Холестирамин является наиболее распространенным сорбентом-секвестрантом. Он представляет собой сополимер стирола и дивинилбензола с функциональными четвертичными аммониевыми (метилтриметил-аммоний хлоридными) группами (QAG):



Холестирамин образует комплексы с СА в желудке и тонком кишечнике; при этом поглощение экзогенного холестерина снижается, усиливается выведение СА из организма и их синтез из эндогенного холестерина. Это приводит к истощению запасов эндогенного холестерина в печени, а также уменьшению всасывания холестерина в тонком кишечнике [28, 29]. Однако холестирамин, как и другие полимерные секвестранты, имеет низкую селективность по отношению к СА, и суточный прием адсорбента для устойчивого терапевтического эффекта достигает 30 г, что сопровождается нежелательными побочными эффектами [30–32]. Поэтому разработка новых, более эффективных адсорбентов желчных кислот остается актуальной задачей химических и медицинских исследований. В литературе описано получение новых

анионообменных смол путем конденсации замещенных имидазольных производных с сополимерами стирола, хлорметилстирола и дивинилбензола; анионитов, в которых триметиламинные группы отделены от матрицы  $\omega$ -оксоалкильными или  $\omega$ -гидроксиалкильными радикалами; сшитого полиакриламидного полимера с боковыми алкильными QAG; модифицированных пищевых волокон, целлюлозы, хитозана, полисахаридов, декстранов и декстринов [33 – 38]. Однако все эти материалы сохраняют недостатки полимерных адсорбентов-секвестрантов: набухаемость структуры и медленное установление адсорбционного равновесия, невысокую селективность по отношению к СА.

Неорганические носители, прежде всего кремнеземные, являются перспективными для синтеза новых адсорбентов желчных кислот. Кремнеземы химически и термически устойчивы, не набухают в растворителях и при контакте с биологическими жидкостями, имеют хорошие кинетические параметры адсорбции [39 - 41]. Кроме того, высокодисперсный кремнезем уже используется в медицинской практике как наполнитель лекарственных препаратов и энтеросорбент веществ белковой природы, токсинов, патогенных микроорганизмов, вирусов [1, 2, 42 - 44].

Как было показано ранее [11], гидроксिलированный высокодисперсный кремнезем адсорбирует СА в слабокислой среде, что существенно снижает эффективность его использования для регулирования содержания СА в тонком кишечнике с рН~8 [29].

### **Химическое модифицирование поверхности кремнезема четвертичными аммониевыми группами**

Четвертичные аммониевые группы, иммобилизованные на поверхности кремнезема, могут быть потенциальными центрами адсорбции СА. Для регулирования уровня СА в живом организме, а также их аналитического определения в различных жидкостях предпочтительнее использовать адсорбенты с химически закрепленными четвертичными аммониевыми группами. Известно получение QAG-кремнеземов путем химической сборки на поверхности, например, взаимодействием аминоалкилкремнеземов с метилиодидом [45, 46], путем нуклеофильного присоединения длинноцепочечных и короткоцепочечных алифатических и ароматических третичных аминов к галогеналкильным группам поверхности кремнезема [47 – 52], а также одностадийной химической реакцией с силанами, содержащими в структуре QAG [50]. Однако систематические исследования химических реакций, приводящих к получению QAG на поверхности кремнезема, в литературе отсутствуют.

Нами изучены две химические реакции в поверхностном слое кремнезема, которые могут приводить к модифицированию его поверхности четвертичными аммониевыми группами. Одна из них – реакция кватернизации между галогенорганокремнеземом и триэтиламином (ТЕА) – относится к непосредственному синтезу QAG в виде химически закрепленных функциональных групп на поверхности кремнезема [9, 53, 54]. Другая – реакция сополимеризации между реагентом, в составе которого уже присутствует QAG (винилбензилтриметиламмоний хлорид), и винилкремнеземом [55].

Исходными кремнеземами служили две разновидности аморфного кремнезема (табл. 1).

### **Реакция кватернизации (нуклеофильное присоединение триэтиламина к галогенорганокремнеземам)**

Нами было предложено [9, 53, 54] проведение реакции кватернизации путем контакта галогенорганокремнезема с парами триэтиламина. Так как основность ТЕА в паровой фазе выше, чем в растворах [56], можно было ожидать более высокого выхода конечного продукта – привитых четвертичных аммониевых групп. В качестве галоген-

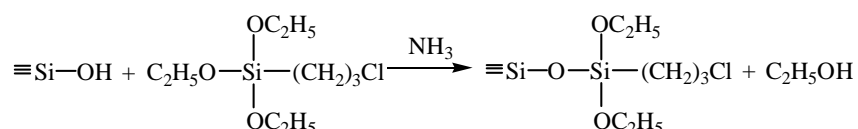
содержащего диоксида кремния для реакции кватернизации использовали хлоропропил-, иодопропил- и иододецилкремнеземы.

**Таблица 1.** Физико-химические характеристики исходных кремнеземов

Кремнезем	Размер частиц, мкм	Диаметр пор, нм	S <sub>уд.</sub> , м <sup>2</sup> /г	Концентрация свободных OH- групп*	
				ммоль/г	мкмоль/м <sup>2</sup>
Аэросил А-300	(5–12) · 10 <sup>3</sup>	–	300	1,00	3,3
Силохром С-120	(0,315–0,5) · 10 <sup>3</sup>	40	118	0,40	3,4

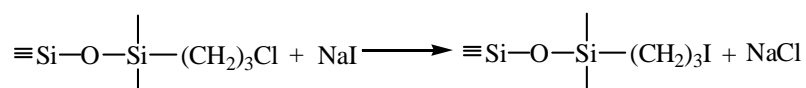
\* Относительная ошибка определения концентрации функциональных групп на поверхности кремнеземов здесь и далее не превышает 5 %.

Хлоропропильные группы в поверхностном слое кремнезема получали реакцией насыщенных паров (3-хлоропропил)триэтоксисилана при 20–400°C с аэросилом, термовакуумированным при 400°C [53, 54]. Было установлено, что полное вовлечение силанольных групп кремнезема в реакцию не происходит даже при 400°C, а только в присутствии аммиака в качестве катализатора:



В ИК спектре органокремнезема с хлоропропилдиэтоксисилильными группами нет полосы поглощения изолированных силанольных групп 3750 см<sup>-1</sup> и имеются интенсивные полосы поглощения валентных асимметричных и симметричных колебаний связей С–Н в области 3000 – 2800 см<sup>-1</sup> (рис. 1). Количественный анализ поверхностных соединений (табл. 2) подтверждает практически полное участие силанольных групп в реакции электрофильного замещения протона силанольных групп хлоропропилдиэтоксисилильными.

Иодопропилкремнезем был синтезирован взаимодействием хлоропропилкремнезема с раствором иодида натрия в метилэтилкетоне при 87°C в течение 24 ч [53, 54]:



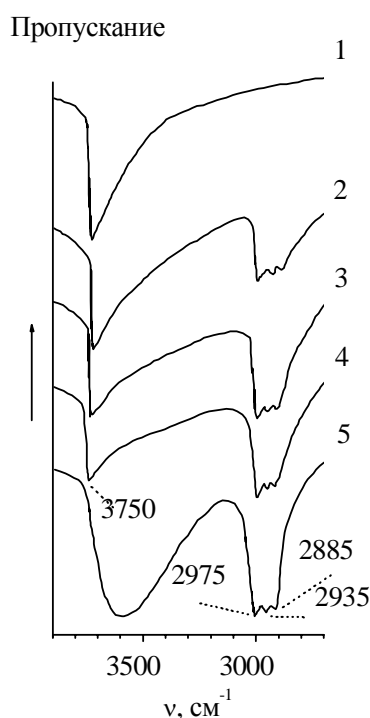
Поверхностный слой иодопропилкремнезема содержит иодопропильные, хлоропропильные и спиртовые группы, так как полное замещение хлора иодом не происходит и сопровождается гидролизом связи С–NaI в привитых галогеналкильных группах [50] (табл. 2).

Иододецилкремнезем получали двухстадийной реакцией модифицирования поверхности кремнезема сначала аминопропильными, а затем иододецильными группами [57]. В ИК спектре аминопропилкремнезема после контакта с диоддеканом наблюдается исчезновение полос поглощения валентных (3375 и 3315 см<sup>-1</sup>) и деформационных (1590 см<sup>-1</sup>) колебаний связи N–H в первичных аминопропильных группах; появляется полоса поглощения 1530 см<sup>-1</sup> деформационных колебаний вторичных аминогрупп. Кроме того, возрастает интенсивность полос поглощения

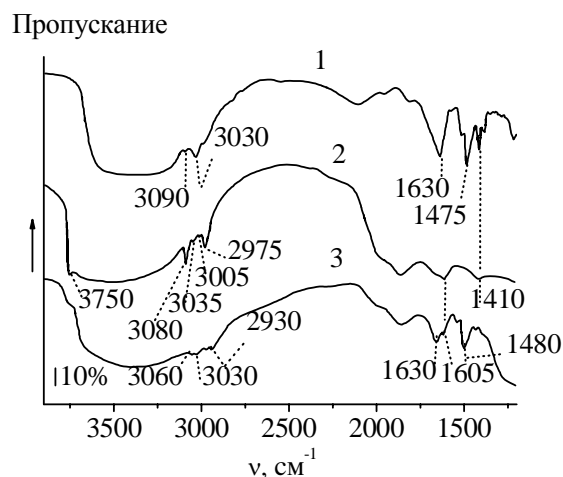
валентных колебаний связи C–H (2940 и 2880 см<sup>-1</sup>) из-за увеличения содержания метиленовых групп в поверхностном слое кремнезема.

**Таблица 2.** Состав поверхности галогеналкильных носителей, использованных для реакции кватернизации

Носитель	Содержание поверхностных функциональных групп, мкмоль/м <sup>2</sup>			
	≡Si–OH	–(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> Cl	–(CH <sub>2</sub> ) <sub>n</sub> I	–(CH <sub>2</sub> ) <sub>3</sub> OH
Хлоропропилаэросил	нет	3,4	–	–
Иодопропилаэросил	нет	1,1	0,6	1,7
Иододецилсилохром	нет	–	3,2	–



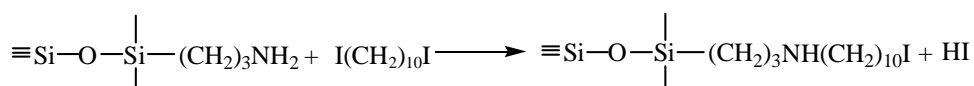
**Рис. 1.** ИК спектры аэросила, вакуумированного при 400 °С в течение 2 ч (1); после обработки парами (3-хлоропропил)триэтоксисилана при 200 (2), 300 (3), 400 °С (4) в течение 2 ч и вакуумирования при 300 °С 1 ч; а также при комнатной температуре в присутствии аммиака в течение 2 ч и вакуумирования при 300 °С 1 ч (5).



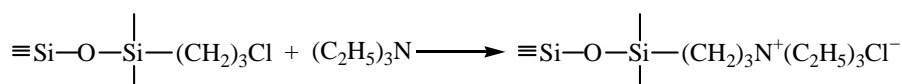
**Рис. 2.** ИК спектры VBTMAs (1), а также винилкремнезема до (2) и после (3) проведения реакции сополимеризации с VBTMAs (температура реакции 90 °С, соотношение винилкремнезем : VBTMAs : инициатор = 1 : 2 : 0,12).

Количество иодоводорода, образовавшегося в результате реакции, равно концентрации закрепленных иододецильных групп и аминопропильных групп в исходном аминопропилкремнеземе. Это однозначно свидетельствует о химическом взаимодействии дигалогеналкана с поверхностью аминопропилкремнезема с участием

только одного атома иода молекулы диоддекана и о практически полном вовлечении в реакцию аминопропильных групп (табл. 2):



Взаимодействие галогеналкилкремнезёмов с ТЕА изучали как при давлении насыщенных паров (в кварцевой вакуумируемой кювете), так и при высоком давлении триэтиламина (в стальном автоклаве). При давлении насыщенных паров ТЕА в интервале 25–200 °С на поверхности хлоропропилкремнезёма образуется лишь незначительное количество QAG. При высоком давлении ТЕА выход реакции кватернизации заметно возрастает (табл. 3):



**Таблица 3.** Условия реакции кватернизации между хлоропропилкремнезёмом и триэтиламином и химический состав поверхностного слоя модифицированных кремнезёмов

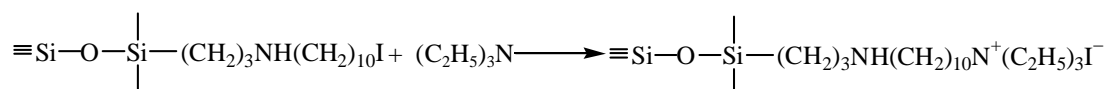
Условия реакции	Равновесное давление ТЕА ( $\times 10^5$ Па) [58]	Количество ТЕА в реакционном объеме*, $\text{см}^3$	Содержание хлора** на поверхности модифицированных кремнезёмов, $\text{мкмоль}/\text{м}^2$	Концентрация QAG, $\text{мкмоль}/\text{м}^2$ ***	Выход реакции кватернизации, %
100°С, 3ч	1,3	0,3	3,4	0,1	3
150°С, 3ч	4,0	0,9	3,1	0,5	16
200°С, 3ч	11,0	2,3	2,3	0,5	22
150°С, 5ч	4,0	0,9	2,1	1,0	48

\* Реакционный объем равен 45  $\text{см}^3$ .

\*\* Суммарное количество четвертичных аммониевых и хлоропропильных групп.

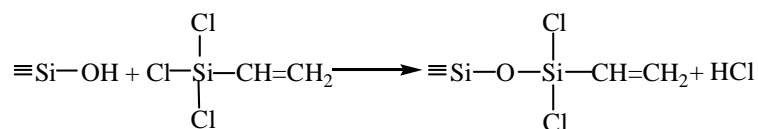
\*\*\* Рассчитана на единицу поверхности исходного кремнезёма.

Благодаря более высокой реакционной способности иодоалкильных групп реакция кватернизации осуществляется при 100 °С уже при давлении насыщенных паров ТЕА со 100 % выходом:

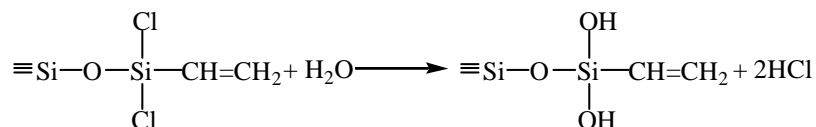


Таким образом, реакция кватернизации может быть осуществлена на поверхности кремнезёма в мягких условиях с высоким выходом конечного продукта – химически закрепленных четвертичных аммониевых групп.

*Реакция сополимеризации.* Взаимодействие винилкремнезёма и винилбензилтриметиламмоний хлорида (VBTMAC) изучали с помощью ИК спектроскопии и химического анализа образующихся поверхностных соединений. Полное замещение силанольных групп кремнезёма дихлорвинилсилильными происходит в результате взаимодействия аэросила, предварительно вакуумированного при 400°С, с насыщенными парами винилтрихлорсилана при 400°С в течение 1 ч:



Полученный винилкремнезем выдерживали в насыщенных парах воды, а затем вакуумировали для удаления физически адсорбированной воды и хлористого водорода:

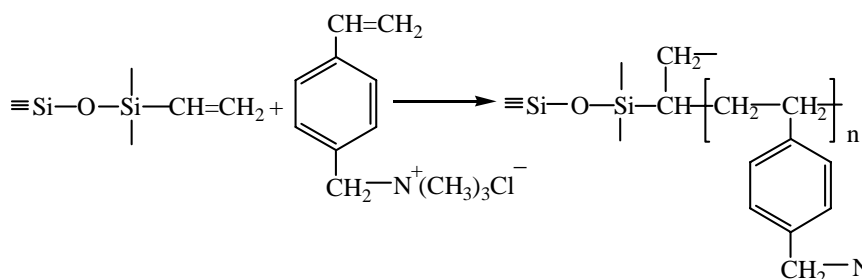


Гидролиз Si-Cl групп винилкремнезема проводили для того, чтобы исключить возможность присоединения хлороводородной кислоты к винильным группам винилкремнезема и винилбензилтриметиламмоний хлорида в ходе реакции сополимеризации [59].

В ИК спектре винилкремнезема (рис. 2) регистрируются полосы поглощения 3080, 3035, 3005, 2975 и 1410 см<sup>-1</sup>, принадлежащие валентным и деформационным колебаниям связи C-H в привитых винильных группах, а также полоса поглощения 1605 см<sup>-1</sup> валентных колебаний связи C=C.

Реакцию сополимеризации проводили в инертной атмосфере, инициатором служил 2,2'-азо-бис-изобутиронитрил. Количество инициатора в реакционном объеме оказывает заметное влияние на процесс иммобилизации VBTMAC. Оптимальное мольное соотношение компонентов [винильные группы кремнезема]:[VBTMAC]: [инициатор реакции] = 1 : 2 : 0,12 (табл. 4). При увеличении содержания инициатора реакции больше 0,12 ммоль наблюдается уменьшение количества привитого VBTMAC в поверхностном слое кремнезема, что может быть связано с превращением радикалов гомолитического распада инициатора в стабильные соединения [60]. Повышение температуры практически не влияет на ход реакции сополимеризации в поверхностном слое винилкремнезема.

В ИК спектре винилкремнезема после контакта с VBTMAC появляются полосы поглощения 1480 см<sup>-1</sup> деформационных колебаний связи C-H в метильных группах и 1510 см<sup>-1</sup> валентных колебаний связи C=C бензольного кольца. Интенсивность полос поглощения винильных групп поверхности кремнезема уменьшается, что может быть следствием их участия в реакции сополимеризации с VBTMAC. Неполное вовлечение винильных групп кремнезема в реакцию сополимеризации подтверждают результаты количественного анализа: из 3,3 мкмоль/м<sup>2</sup> винильных групп винилкремнезема в реакцию сополимеризации с VBTMAC вступает только 1,1 мкмоль/м<sup>2</sup>:



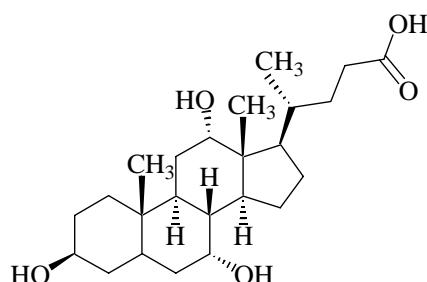
Таким образом, реакция сополимеризации между винильными группами винилкремнезема и винилбензилтриметиламмоний хлорида осуществляется уже при 65°C. Выход реакции составляет 31%. Строение иммобилизованных четвертичных аммониевых групп идентично функциональным группам холестерина.

**Таблица 4.** Условия реакции сополимеризации и содержание привитого VBTMAC в поверхностном слое кремнезема

Содержание компонентов в реакционном объеме, ммоль			Температура реакции, °С	Содержание VBTMAC-групп, мкмоль/м <sup>2</sup>
винильные группы кремнезема	VBTMAC	инициатор		
1	2	0,12	65	1,0
1	2	0,12	90	1,0
1	2	0,06	65	0,6
1	2	0,24	90	0,8
1	2	0,36	90	0,6

### Адсорбция холевой кислоты на поверхности адсорбентов с четвертичными аммониевыми группами

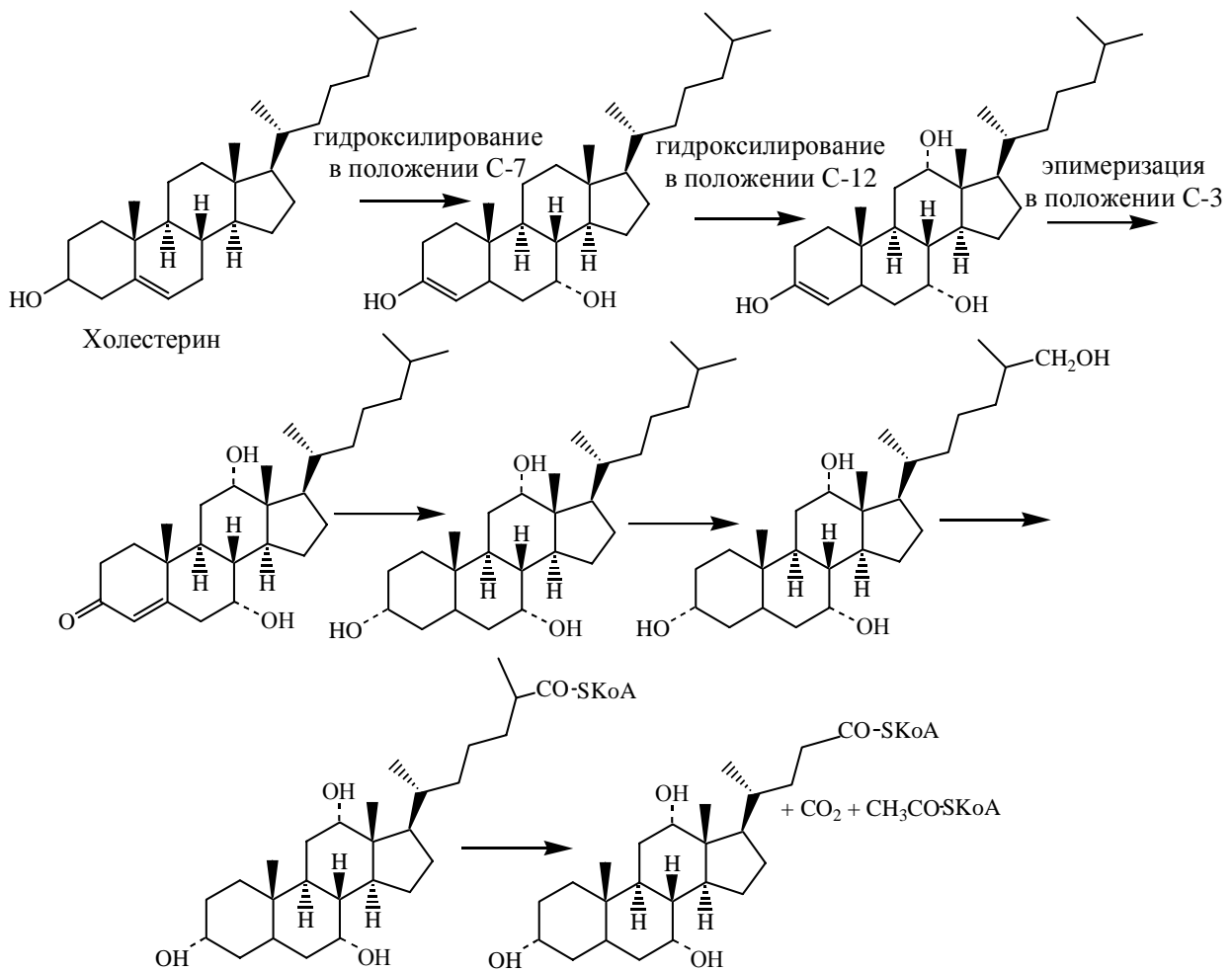
Холевая кислота (HCA) – первичная желчная кислота ( $pK_a=5,0$ ), которая является основным продуктом распада холестерина:



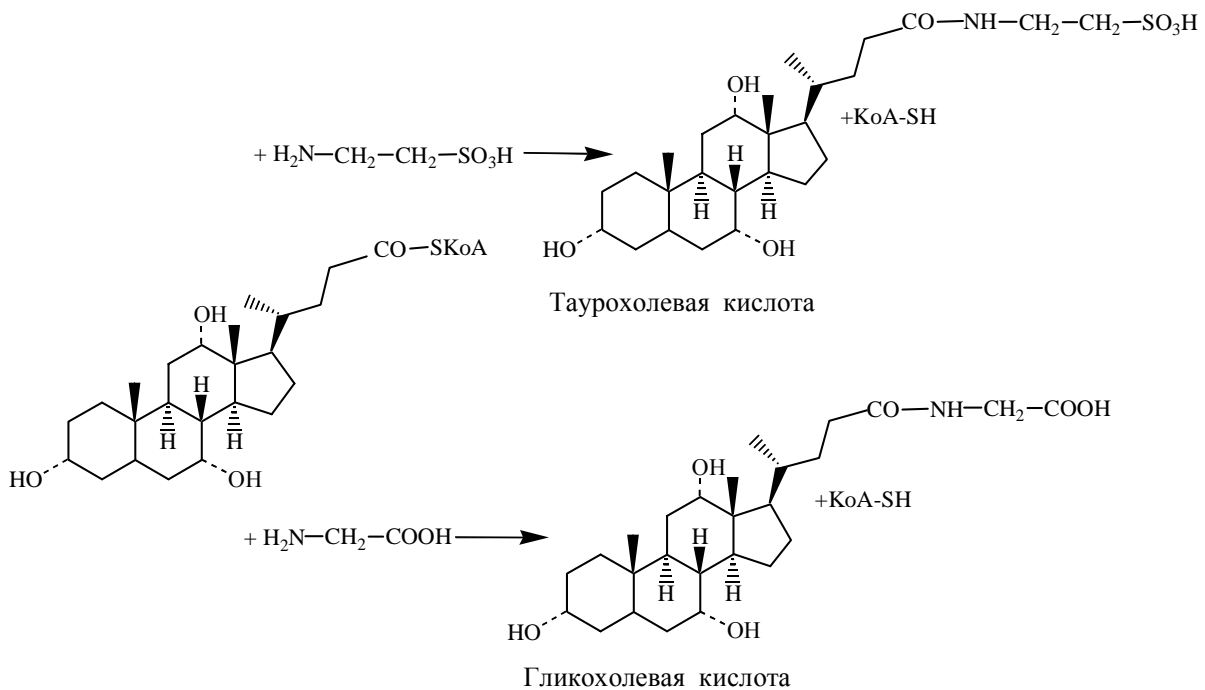
В процессе биосинтеза СА холестерин последовательно гидроксيليруется в положениях 7 и 12, затем происходит изомеризация атома углерода в положении 3, которая сопровождается насыщением двойной связи. Серия реакций приводит к укорочению боковой цепи, а также к окислению одной из концевых групп до спиртовой группы, а затем до ацил-кофермента А. После этого происходит отщепление диоксида углерода и ацетил-кофермента А, вследствие чего остается холил-кофермент А. Схема превращения холестерина выглядит таким образом [61]:

Нами изучена адсорбция HCA на QAG-кремнеземах, отличающихся химическим составом поверхности и строением закрепленных четвертичных аммониевых групп (табл. 5), и для сравнения на холестирамине [62]. Для синтеза QAG-кремнеземов были выбраны оптимальные условия осуществления реакций кватернизации и сополимеризации в поверхностном слое диоксида кремния [53 – 55]. Полученные кремнеземные адсорбенты, а также холестирамин были переведены в Cl- и OH-форму перед адсорбционными опытами.





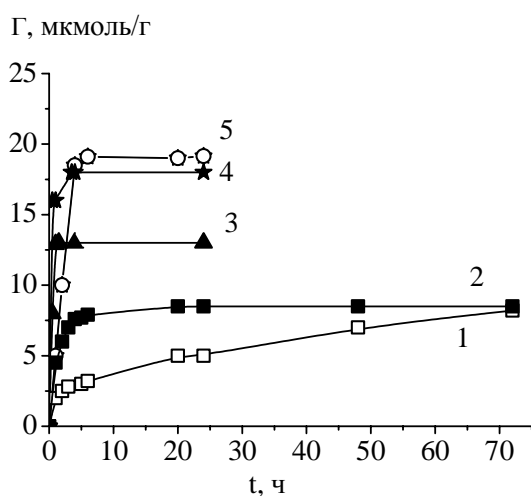
Холил-кофермент А соединяется с таурином (H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>H) и глицином (H<sub>2</sub>N-CH<sub>2</sub>-COOH), вследствие чего образуются таурохолевая и гликохолевая кислоты:



**Таблица 5.** Структура и концентрация функциональных групп QAG-адсорбентов

Адсорбент	Исходный носитель	Функциональная группа адсорбента	Концентрация QAG	
			ммоль/г	мкмоль/м <sup>2</sup>
I	Аэросил	$-(\text{CH}_2)_3\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{Cl}^-$	0,30	1,1
		$-(\text{CH}_2)_3\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{OH}^-$	0,30	1,1
II	Силохром	$-(\text{CH}_2)_{10}\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{Cl}^-$	0,32	3,2
		$-(\text{CH}_2)_{10}\text{N}^+(\text{C}_2\text{H}_5)_3\text{OH}^-$	0,32	3,2
III	Аэросил	$-\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$	0,20	0,7
		$-\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{OH}^-$	0,20	0,7
Холестирамин	Сополимер стирола и дивинилбензола	$-\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{Cl}^-$	2,9	5,3
		$-\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3\text{OH}^-$	2,9	5,3

Адсорбционное равновесие на QAG-кремнеземах устанавливается уже через 1-4 ч, для холестирамина в набухшем состоянии – через 24 ч, а для воздушно-сухого полимера не достигается даже через неделю контакта с раствором холевой кислоты (рис. 3). Для адсорбционных опытов использовали раствор НСА с концентрацией 0,1 ммоль/л, что существенно меньше критической концентрации мицеллообразования холевой кислоты [63].



**Рис. 3.** Зависимость адсорбции холевой кислоты от времени контакта с 0,1 мМ водным раствором НСА: 1, 2 – холестирамин в воздушно-сухом и набухшем состоянии соответственно, 3–5 – кремнеземные адсорбенты I–III в Cl-форме.

На рис. 4–6 представлены зависимости адсорбции НСА от рН равновесного раствора. С повышением рН увеличивается адсорбция НСА, достигая максимального значения при рН 4–5, что свидетельствует об анионообменном характере адсорбции НСА. Противоионы, расположенные около положительно заряженных атомов азота четвертичных аммониевых групп, замещаются анионами холевой кислоты; при этом адсорбция НСА увеличивается с ростом концентрации анионов холевой кислоты в растворе. При рН > 6 наблюдается уменьшение адсорбции НСА, что вызвано конкурентной анионообменной сорбцией гидроксил-ионов из растворов. По этой же причине анионообменная емкость адсорбентов в OH-форме меньше, чем в Cl-форме, и снижение адсорбции НСА с повышением рН выражено более четко. Адсорбционная способность всех QAG-кремнеземов выше, чем у холестирамина (рис. 4). Таким

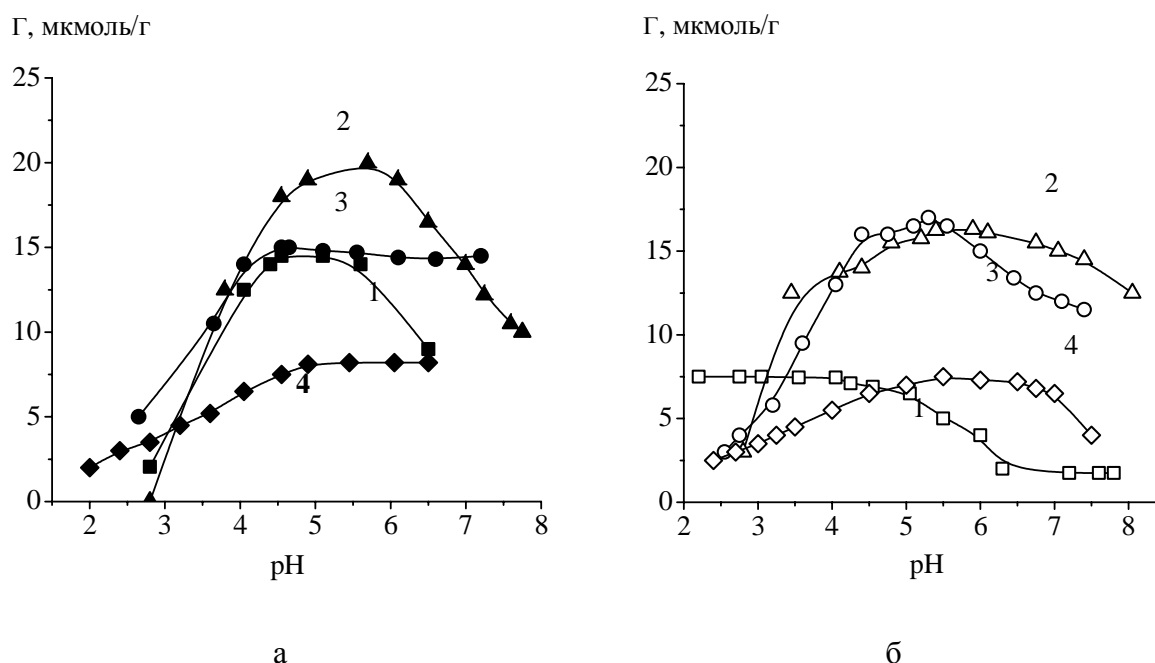
образом, ряд анионной селективности для изученных QAG-адсорбентов выглядит следующим образом:



Сродство адсорбентов к холевой кислоте увеличивается в ряду:

холестирамин < адсорбент I < адсорбент III < адсорбент II.

Извлечение НСА из 0,1 мМ раствора осуществляется практически полностью. Однако емкость адсорбентов при этом используется лишь в незначительной степени. Следует отметить, что при увеличении объема раствора адсорбция НСА существенно возрастает (рис. 5).

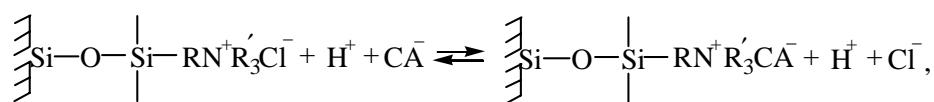


**Рис. 4.** Зависимость адсорбции НСА от pH равновесного раствора для кремнеземных адсорбентов I–III (1–3 соответственно) и влажного холестирамина (4) в Cl- (а) и OH-форме (б).

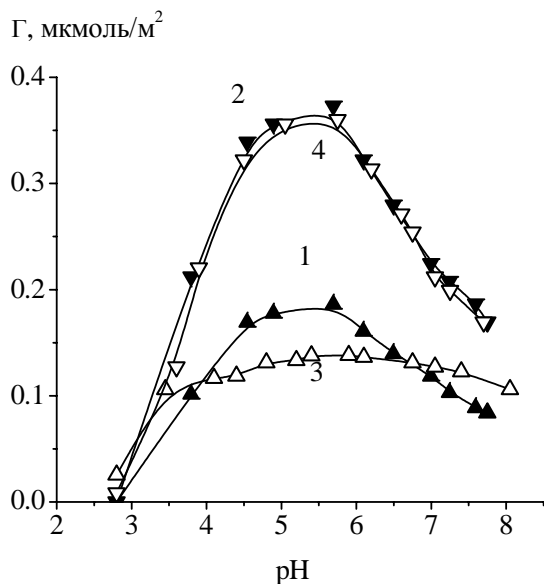
Адсорбция НСА, как видно из рис. 4–6, зависит от строения привитых четвертичных аммониевых групп. Удельная адсорбция НСА для адсорбента II в несколько раз выше, чем для адсорбентов I и III. Это указывает на то, что механизм адсорбции может быть более сложным, чем просто анионный обмен с участием положительно заряженных центров поверхности QAG-кремнеземов.

Изотермы адсорбции НСА для адсорбентов I–III имеют сигмоидальную форму (рис. 7, 8), что может быть следствием протекания на поверхности адсорбентов нескольких процессов.

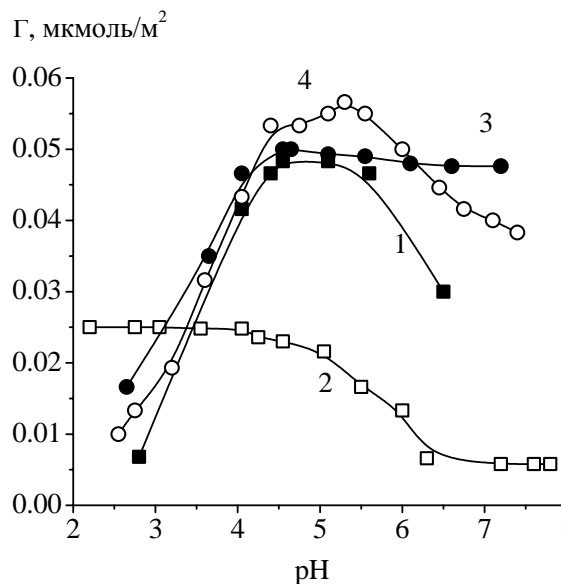
По-видимому, уже при малых концентрациях НСА в растворе происходит ионный обмен между анионами холевой кислоты и противоионами, связанными с положительно заряженными центрами поверхности адсорбента (QAG). Этот процесс может быть охарактеризован константой  $K_i$ , которая отражает силу электростатического притяжения между положительно заряженными центрами поверхности адсорбента и анионами холевой кислоты, присутствующими в растворе:



где  $R = (\text{CH}_2)_3$ ,  $(\text{CH}_2)_3\text{NH}(\text{CH}_2)_{10}$  или  $\text{CH}(\text{CH}_2)[\text{C}_2\text{H}_4]_n\text{C}_6\text{H}_4\text{CH}_2$ ;  $R' = \text{CH}_3$  или  $\text{C}_2\text{H}_5$ .

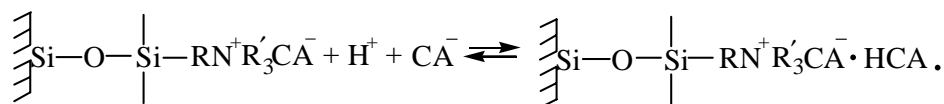


**Рис. 5.** Удельная адсорбция НСА в зависимости от рН равновесного раствора для адсорбента II в Cl- (1, 2) и OH-форме (3, 4);  $V_{\text{НСА}} = 10$  мл (1, 3) и 40 мл (2, 4).

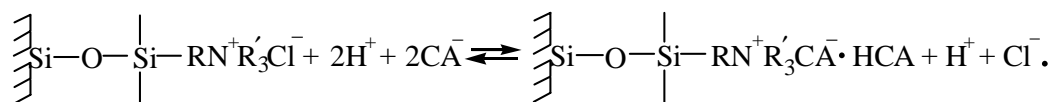


**Рис. 6.** Удельная адсорбция НСА в зависимости от рН равновесного раствора для адсорбентов I и III в Cl- (1, 3) и OH-форме (2, 4) соответственно.

Адсорбция НСА также происходит за счет дисперсионного притяжения между гидрофобными участками поверхности адсорбента и стероидными сегментами молекул холевой кислоты, находящихся в растворе. Гидрофобными участками являются углеводородные цепи, состоящие из метиленовых звеньев, и бензильные радикалы, посредством которых QAG закреплены на поверхности адсорбента, а также поверхностные ионные комплексы « $\text{QAG}^+ - \text{CA}^-$ ». Вклад гидрофобных взаимодействий в суммарную адсорбцию НСА может быть выражен через константу агрегирования  $K_{\text{ag}}$  между анионами холевой кислоты, находящимися в растворе, и поверхностными адсорбционными центрами, которые включают гидрофобные участки привитых функциональных групп и поверхностные комплексы химически закрепленных QAG с  $\text{CA}^-$ :

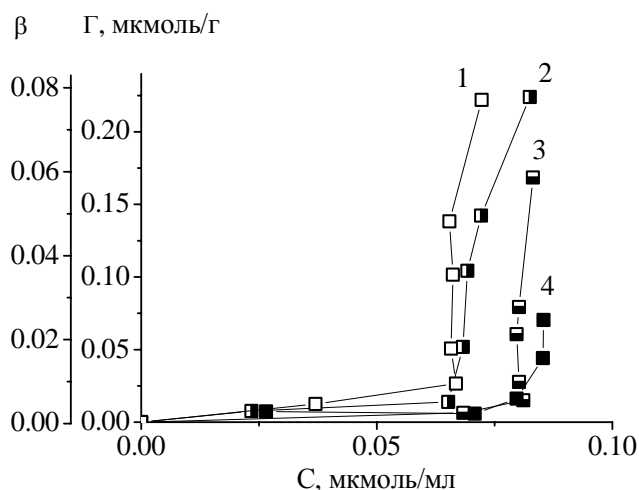


Тогда суммарный процесс адсорбции может быть представлен следующим образом:

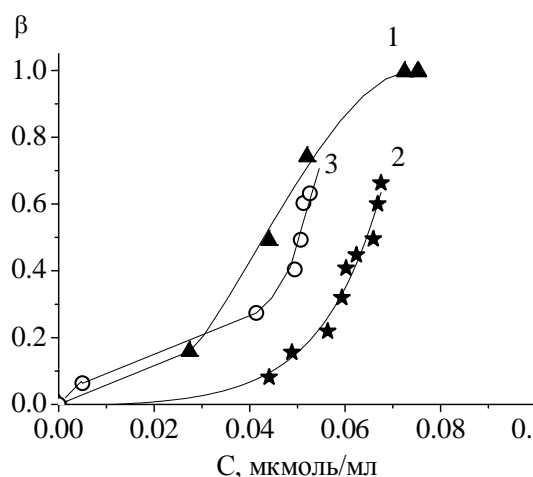


Константа равновесия суммарного процесса адсорбции (константа связывания холевой кислоты, или константа устойчивости  $K_s$ ) равна произведению константы ионного обмена и константы агрегирования:

$$K_s = K_i \cdot K_{ag}$$



**Рис. 7.** Зависимость адсорбции  $\Gamma$  и степени связывания  $\beta$  холевой кислоты от равновесной концентрации для воздушно-сухого холестирамина: 1 – водный раствор, 2 – фосфатный буферный раствор, 3 – фосфатный буферный раствор в присутствии 0,0001 М NaCl, 4 – фосфатный буферный раствор в присутствии 0,1 М NaCl.



**Рис. 8.** Зависимость степени связывания  $\beta$ -холевой кислоты от равновесной концентрации для адсорбентов I–III (кривые 1–3 соответственно).

При степени связывания холевой кислоты  $\beta = 0,5$  ( $\beta$  – отношение количества QAG, связанных с HCA, к их общему содержанию в адсорбенте) константа устойчивости представляет собой величину, обратную равновесной концентрации холевой кислоты в растворе:

$$K_s = 1/C_{eq},$$

$$a \quad d\beta/d\ln C_{eq} = \sqrt{K_{ag}/4} \quad [64, 65].$$

Нами рассчитаны адсорбционные параметры  $K_s$ ,  $K_i$  и  $K_{ag}$  для кремнеземных QAG-адсорбентов (табл. 6). Для холестирамина приведены литературные данные [34], полученные при изучении адсорбции более растворимого холата натрия на поверхности анионообменной смолы, так как из-за низкой растворимости холевой кислоты более половины QAG холестирамина не участвует в связывании HCA (рис. 7).

Крутой подъем на изотермах адсорбции HCA для адсорбентов I–III начинается в области меньших равновесных концентраций холевой кислоты, чем в случае воздушно-сухого холестирамина (рис. 7, 8).

**Таблица 6.** Основные параметры связывания холевой кислоты для QAG-кремнеземов и холестирамина

Адсорбент	Концентрация функциональных групп		Адсорбционная среда	Т, °С	Параметры адсорбции холевой кислоты		
	ммоль/г	мкмоль/м <sup>2</sup>			K <sub>s</sub> , л/ммоль	K <sub>ag</sub>	K <sub>i</sub> , л/ммоль
I	0,09	0,3	водный раствор, рН=4,18–4,77	20	23± 1	4,2± 0,5	5,4± 0,9
II	0,30	3,0	водный раствор, рН=4,74–5,67	20	15,2± 0,8	27± 2	0,56± 0,08
			водный раствор, рН=4,13–4,55	20	20± 1	28± 2	0,71± 0,09
			0,025 М фосфатный буферный раствор, рН=6,86	20	14± 1	38± 3	0,38± 0,06
			0,0001 М NaCl в 0,025 М фосфатном буферном растворе, рН=6,86	20	14± 1	52± 4	0,27± 0,04
III	0,29	1,1	0,1 М NaCl в 0,025 М фосфатном буферном растворе, рН=6,86	20	13,5± 0,6	77± 5	0,18± 0,02
			0,01 М фосфатный буферный раствор, рН=7,4	25	0,429	17,7	0,0245
Холестир-амин*	3,15	5,7	0,12 М NaCl в 0,01 М фосфатном буферном растворе, рН=7,4	25	0,198	18,5	0,0107

\* Литературные данные [34].

Величины константы устойчивости K<sub>s</sub> кремнеземных адсорбентов значительно больше, чем для холестирамина (табл. 6). Увеличение рН и ионной силы растворов приводит к уменьшению K<sub>s</sub> и для холестирамина, и для адсорбента III (рис. 9). Это может свидетельствовать о конкурирующем обмене с анионами буферного раствора и СГ-ионами.

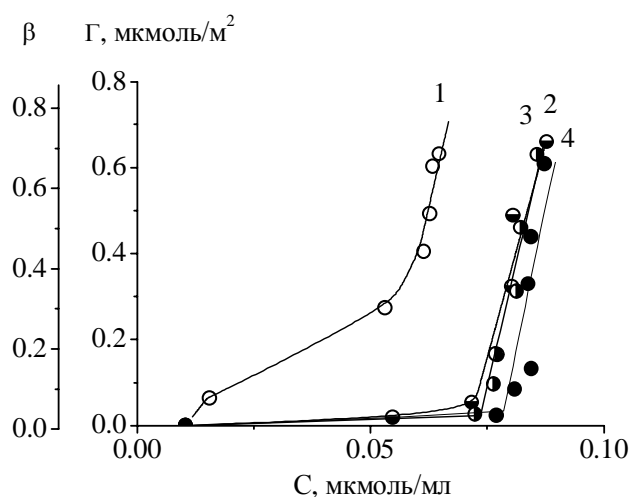
Константы устойчивости K<sub>s</sub> и анионного обмена K<sub>i</sub> увеличиваются в ряду:

холестирамин < адсорбент II < адсорбент III < адсорбент I,

который соответствует уменьшению концентрации QAG на поверхности адсорбентов (табл. 6). Этот факт можно объяснить тем, что в результате увеличения плотности прививки четвертичные аммониевые группы из изолированных центров адсорбции холевой кислоты превращаются в кооперативные; при этом прочность удерживания противоионов возрастает, а их способность к обмену на СА<sup>-</sup> уменьшается. Наиболее низка способность к поглощению СА<sup>-</sup> у холестирамина. Это, по-видимому, связано не только с высокой концентрацией QAG, но и со структурой полимера, а именно, расположением центров адсорбции не на поверхности, как у кремнеземов, а в объеме. В этом случае существенно возрастает влияние соседних функциональных групп на прочность удерживания противоионов и анионный обмен в целом [66].

Константа агрегирования K<sub>ag</sub> увеличивается в последовательности:

адсорбент I < холестирамин < адсорбент II, адсорбент III.



**Рис. 9.** Зависимость адсорбции  $\Gamma$  и степени связывания  $\beta$  холевой кислоты от равновесной концентрации для адсорбента III: 1 – водный раствор, 2 – фосфатный буферный раствор, 3 – фосфатный буферный раствор в присутствии 0,0001 М NaCl, 4 – фосфатный буферный раствор в присутствии 0,1 М NaCl.

Величина  $K_{ag}$  для адсорбента I наименьшая в изученном ряду. Следовательно, определяющий вклад в величину  $K_{ag}$  принадлежит гидрофобным взаимодействиям пропильных радикалов поверхности со стероидными сегментами НСА, а не взаимодействиям уже связанных анионов холевой кислоты с  $SA^-$  раствора. Увеличение гидрофобности поверхности адсорбентов II и III приводит к резкому увеличению  $K_{ag}$ , холестирамин занимает в этом ряду промежуточное положение. Несмотря на то, что холестирамин и адсорбент III имеют одинаковое строение функциональных групп, величины  $K_i$ ,  $K_{ag}$  и  $K_s$  для холестирамина существенно меньше, что также свидетельствует о кооперативном характере его функциональных групп.

## Выводы

Предложено введение в поверхностный слой кремнезема четвертичных аммониевых групп с помощью реакции кватернизации между галогеналкилкремнеземом и насыщенными парами триэтиламина, а также сополимеризации винилкремнезема и винилбензилтриметиламмоний хлорида.

Изучена адсорбция основного продукта распада холестерина – холевой кислоты – в зависимости от времени, pH, ионной силы и концентрации равновесного раствора QAG-адсорбентами.

Рассчитаны основные адсорбционные параметры  $K_i$ ,  $K_{ag}$  и  $K_s$ ; установлена их взаимосвязь со строением модифицирующего слоя синтезированных QAG-кремнеземов. Выявлено существенное влияние гидрофобных взаимодействий на процесс адсорбции холевой кислоты.

Полученные результаты позволяют предположить, что кремнеземные адсорбенты с химически закрепленными четвертичными аммониевыми группами будут более эффективны, чем QAG-полимеры, для регулирования содержания желчных кислот в биологических средах.

## Литература

1. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Под ред. А.А. Чуйко – К.: Наук. думка, 2003. – 415 с.

2. Кремнеземы в медицине и биологии / Под ред. А.А. Чуйко. – Киев– Ставрополь, 1993. – 259 с.
3. Belyakova L.A., Vlasova N.N., Golovkova L.P., Varvarin A.M., Lyashenko D.Yu., Svezhentsova A.A., Stukalina N.G., Chuiko A.A. Modified organosilicas for adsorption of some organic acids // Chemistry, Physics and Technology of surface. – 2001. – Iss. 4–6. – P.357–367.
4. Белякова Л.А., Власова Н.Н., Головкова Л.П., Варварин А.М., Ляшенко Д.Ю., Стукалина Н.Г. Адсорбция бензойной и салициловой кислот на поверхности модифицированных кремнеземов // Журн. физ. химии. – 2001. – Т. 75, № 7. – С.1296-1301.
5. Belyakova L.A., Vlasova N.N., Varvarin A.M., Golovkova L.P., Lyashenko D.Yu. Adsorption of monocarboxylic acids on the surface of organosilicas // V Ukrainian–Polish Symp. “Theoretical and experimental studies of interfacial phenomena and their technological application”. Collection of abstracts (Odessa, Ukraine, 2000). – P.11–12.
6. Белякова Л.А., Чуйко А.А., Варварин А.М., Роик Н.В., Власова Н.Н., Головкова Л.П., Свеженцова А.А. Функциональные кремнеземы для сорбции желчных кислот // Int. conf. “Functionalized materials: synthesis, properties and application” (Kyiv, Ukraine, 2002): Book of abstracts – P.300–302.
7. Роик Н.В., Белякова Л.А. Синтез органокремнеземных сорбентов с различной основностью функциональных групп и степенью гидрофобности поверхности // Вторая Всерос. конф. (с межд. участием) “Химия поверхности и нанотехнология”. Матер. конф. (С.-Петербург–Хилово, Россия, 2002). – С.25–27.
8. Ляшенко Д.Ю., Белякова Л.А., Бесараб Л.Н. Направленное модифицирование поверхности кремнезема геминном // Вторая Всерос. конф. (с межд. участием) “Химия поверхности и нанотехнология”. Материалы конф. (С.-Петербург–Хилово, Россия, 2002). – С.77.
9. Белякова Л.О., Варварин А.М., Роик Н.В. Вплив адсорбційного і хімічного модифікування поверхні високодисперсного кремнезему на адсорбцію холевої кислоти // Хімія, фізика та технологія поверхні. – 2003. – Вип. 9. – С.115–122.
10. Белякова Л.А., Варварин А.М., Ляшенко Д.Ю., Роик Н.В. Адсорбция поли(1-винил-2-пирролидона) на поверхности высокодисперсного кремнезема // Журн. физ. химии. – 2003. – Т. 77, № 2. – С.324–328.
11. Власова Н.Н., Белякова Л.А., Головкова Л.П., Свеженцова А.А., Стукалина Н.Г. Адсорбция желчных кислот на поверхности высокодисперсного кремнезема // Журн. физ. химии. – 2003. – Т. 77, № 5. – С.902–905.
12. Belyakova L.A., Vlasova N.N., Golovkova L.P., Varvarin A.M., Lyashenko D.Yu., Svezhentsova A.A., Stukalina N.G., Chuiko A.A. Role of surface nature of functional silicas in adsorption of monocarboxylic and bile acids // J. Colloid Interface Sci. – 2003. – V. 258, N 1. – P.1–9.
13. Belyakova L.A., Varvarin A.M., Lyashenko D.Yu., Roik N.V. Study of interaction of poly(1-vinyl-2-pyrrolidone) with a surface of highly dispersed amorphous silica // J. Colloid Interface Sci. – 2003. – V. 264, N 1. – P.2–6.
14. Роик Н.В., Белякова Л.О. Хімічно модифіковані кремнеземи для сорбції жовчних кислот // Всеукр. конф. молодих вчених з актуальних питань хімії (Київ, Україна, 2003): Тези доп. – С.133.
15. Бесараб Л.Н., Ляшенко Д.Ю., Белякова Л.А. Конструирование на поверхности кремнезема геминсодержащих структур // Всеукр. конф. молодих вчених з актуальних питань хімії (Київ, Україна, 2003): Тези доп. – С.72.



16. Беякова Л.А., Варварин А.М., Ляшенко Д.Ю., Бесараб Л.Н., Власова Н.Н., Головкова Л.П. Модифицированные кремнеземы как сорбенты желчных кислот // Праці міжнарод. семінару “Мікродомішки у воді” (Київ, Україна, 2003). – С.8–9.
17. Беякова Л.А., Ляшенко Д.Ю., Бесараб Л.Н. Синтез и строение поверхности геминсодержащих кремнеземов // Укр. хим. журн. –2004. – Т. 70, № 1. – С.19–25.
18. Беякова Л.А., Власова Н.Н., Головкова Л.П., Ляшенко Д.Ю., Бесараб Л.Н., Роик Н.В. Адсорбция желчных кислот на поверхности геминсодержащих кремнеземов // Журн. физ. химии. – 2004. – Т. 78, № 6. – С.1097–1101.
19. Бесараб Л.Н., Беякова Л.А. Влияние химического строения поверхности кремнезема на адсорбцию желчных кислот // Межд. школа–семинар для молодых ученых “Наноматериалы в химии и биологии” (Киев, Украина, 2004): Автореф. докл. – С.97.
20. Беякова Л.А., Варварин А.М., Бесараб Л.Н. Роль гидрофобных взаимодействий в адсорбции желчных кислот на поверхности кремнезема // Материалы IX Всерос. симп. с участием иностр. ученых “Современные проблемы организации пористых структур и адсорбционного разделения веществ” (Москва–Клязьма, Россия, 2004). – С.73.
21. Бесараб Л.Н., Варварин А.М., Беякова Л.А., Власова Н.Н. Роль гидрофобных взаимодействий в адсорбции желчных кислот модифицированными кремнеземами // Всеукр. конф. студентів та аспірантів “Сучасні проблеми хімії”: Збірка тез доп. (Київ, Україна, 2004). – С.90.
22. Роїк Н.В., Беякова Л.О., Головкова Л.П. Особливості адсорбції холевої кислоти на поверхні модифікованих кремнеземів // Укр. хим. журн. –2004. – Т. 70, № 12. – С.69–74.
23. Беякова Л.А., Варварин А.М., Бесараб Л.Н., Власова Н.Н., Головкова Л.П. Роль гидрофобных взаимодействий в адсорбции желчных кислот // Журн. физ. химии. – 2005. – Т. 79, № 3. – С.518–522.
24. Бесараб Л.М., Беякова Л.О. Адсорбція холевої кислоти на поверхні функціональних органокремнеземів // Десята наук. конф. “Львівські хімічні читання – 2005”: 36. наукових праць (Львів, Україна, 2005). – Ф51.
25. Belyakova L.A., Besarab L.N. Hydrophilic–hydrophobic silicas with various structure of modifying layer // Int. Conf. “Nanomaterials in Chemistry, Biology and Medicine”. Book of abstracts (Kyiv, Ukraine, 2005). – P.167.
26. Belyakova L.A., Besarab L.N., Roik N.V., Lyashenko D.Yu., Vlasova N.N., Golovkova L.P., Chuiko A.A. Designing of adsorption centers for bile acids on a silica surface // J. Colloid Interface Sci. – 2006. – V. 294, N 1. – P.11–20.
27. Ленинджер А. Основы биохимии – М.: Мир, 1985. – Т. 3. – 320 с.
28. Hofmann A.F. Bile acids: the good, the bad, and the ugly // News Physiol. Sci. – 1999. – V. 14. – P.24–29.
29. Hofmann A.F., Mysels K.J. Bile salts as biological surfactants // Colloids and Surfaces. – 1988. – V. 30, N 1/2. – P.145–173.
30. Johns W.H., Bates T.R. Quantification of the binding tendencies of cholestyramine I: effect of structure and added electrolytes on the binding of unconjugated and conjugated bile-salt anions // J. Pharm. Sci. – 1969. –V. 58, N 2. – P.179–183.
31. Clas S.D. Quaternized colestipol, an improved bile salt adsorbent: in vitro studies // J. Pharm. Sci. – 1991. – V. 80, N 2. – P.128–131.
32. Benson G.M., Haynes C., Blanchard S., Ellis D. In vitro studies to investigate the reasons for the low potency of cholestyramine and colestipol // J. Pharm. Sci. – 1993. – V. 82, N 1. – P.80–86.

33. Zhu X.X., Brizard F., Piche J., Yim C.T., Brown G.M. Bile salt anion sorption by polymeric resins: comparison of a functionalised polyacrylamide resin with cholestyramine // *J. Colloid Interface Sci.* – 2000. – V. 232. – P.282–288.
34. Nichifor M., Zhu X.X., Baille W., Cristea D., Carпов A. Bile acid sequestrants based on cation dextran hydrogel microsphere. 2. Influence of the length of alkyl substituents at the amino groups of the sorbents on the sorption of bile salts // *J. Pharm. Sci.* – 2001. – V. 90, N 6. – P.681–689.
35. Nichifor M., Lopes A., Carпов A., Melo E. Aggregation in water of dextran hydrophobically modified with bile acids // *Macromolecules.* – 1999. – V. 32 – P.7078-7085.
36. Redenti E., Szente L., Szejtli J. Cyclodextrin complexes of salts of acidic drugs. Thermodynamic properties, structural features, and pharmaceutical applications // *J. Pharm. Sci.* – 2001. – V. 90, N 8. – P.979–986.
37. Mamoru H., Naotako O., Asushi J. Sorption characteristics of anion-exchange resins possessing  $\omega$ -oxoalkyl or  $\omega$ -hydroxyalkyl spacer for bile acids // *Anal. Sci.* – 1985. – V. 5, N 6. – P.687–690.
38. Kunio K., Hideo T., Motokuni M., Munehiro H., Susumu M. The bile acid binding and hypocholesterolemic activity of anion-exchange resins bearing the imidazolium salt group // *Eur. J. Med. Chem.* – 1988. – V. 23, N 5. – P.411–415.
39. Айлер Р. Химия кремнезема. – М.: Мир, 1982. – Т. 2. – 711 с.
40. Тертых В.А., Белякова Л.А. Химические реакции с участием поверхности кремнезема. – К.: Наук. думка, 1991. – 261 с.
41. Vansant E.F., Van Der Voort P., Vrancken K.C. Characterization and chemical modification on the silica surface. – Amsterdam, Elsevier, 1995. – 555 p.
42. Daniels R., Kerstiens B., Tischinger-Wagner H., Rupprecht H. The stability of drug adsorbates on silica // *Drug development and industrial pharmacy.* – 1986. – V. 12. – P. 2127–2156.
43. Алюшин М.Т., Астраханова М.И. Аэросил и его применение в фармацевтической практике // *Фармация.* – 1958. – Т. 17, N 6. – С.73–77.
44. Грецкий В.М., Царагешвили Г.В. Носители лекарственных веществ в мазях. – Тбилиси: Мецниереба, 1979. – 175 с.
45. Rounds M.A., Kopaciewicz W., Regnier F.E. Factors contributing to intrinsic loading capacity in silica-based packing materials for preparative anion-exchange protein chromatography // *J. Chromatogr.* – 1986. - V. 362. – P.187–196.
46. De Campos E.A., da Silva Alfaya A.A., Ferrari R.T., Costa C.M. Quaternary ammonium salts immobilised on silica gel: exchange properties and application as potentiometric sensor for perchlorate ions // *J. Colloid Interface Sci.* – 2001. – V. 240. – P.97–104.
47. Cox G.B., Loscombe C.R., Slucutt M.J., Sugden K., Upfield J.A. The preparation, properties and some applications of bonded ion-exchange packings on microparticulate silica gel for high-performance liquid chromatography // *J. Chromatogr.* – 1976. – V. 117. – P.269–278.
48. Crowther J.B., Fazio S.D., Hartwick R.A. High-performance liquid chromatography separation of oligonucleotides and other nucleic acid constituents on multifunctional stationary phases // *J. Chromatogr.* – 1983. – V. 282. – P.619–628.
49. Lin C.-E., Yang Y.-H., Yang M.-H. Novel silica-based strong anion exchanger for single-column ion chromatography // *J. Chromatogr.* – 1990. – V. 515. – P.49–58.
50. Ciolino L.A., Dorsey J.G. Synthesis and characterization of silica-based aliphatic ion exchangers // *J. Chromatogr. A.* – 1994. – V. 675, N 1–2. – P.29–45.
51. Tundo P., Venturello P., Angeletti E. Anion-exchange properties of ammonium salts immobilized on silica gel // *J. Amer. Chem. Soc.* – 1982. – V. 104, N 3. – P.6547–6551.

52. Suhara T., Kanemaru T., Fukui H., Yamaguchi M. Fine silica powder modified with quaternary ammonium groups: reactivity and characteristics // *Colloids and Surfaces.* – 1995. – V. 95. – P.1–9.
53. Белякова Л.А., Варварин А.М., Роик Н.В. Синтез четвертичных аммониевых групп в поверхностном слое кремнезема методом химической сборки // *Укр. хим. журн.* – 2004. – Т. 70, № 3. – С.40–44.
54. Belyakova L.A., Roik N.V., Varvarin A.M. Direct chemical assembly of quaternary ammonium groups on a surface of highly disperse silica // *Appl. Surface Sci.* – 2006. – V. 253, N 10. – P.3390–3405.
55. Roik N.V., Belyakova L.A., Varvarin A.M. Adsorption of cholic acid on silica modified with benzyltrimethylammonium groups // *Functional Mater.* – 2006. – V. 13, N 4. – P.674–682.
56. Терней А. Современная органическая химия. – М.: Мир, 1981. – Т. 1. – 678 с.
57. Колотуша Т.П., Полонская И.Н., Белякова Л.А., Иванова В.Г., Тертых В.А. Способ получения носителя для иммобилизации органических соединений / А.с. СССР № 1153975, 1985 г. – Бюл. № 17.
58. Рид Р., Праусниц Дж., Шервуд Т. Свойства газов и жидкостей. – Л.: Химия, 1982. – 592 с.
59. Темникова Т.И. Курс теоретических основ органической химии. – Л.: Химия, 1968. – 1008 с.
60. Шур А.М. Высокомолекулярные соединения. – М.: Высшая школа, 1981. – 656 с.
61. Крю Ж. Биохимия. Медицинские и биологические аспекты. – М.: Медицина, 1979. – 510 с.
62. Роик Н.В., Белякова Л.А. Адсорбция холевой кислоты на поверхности органокремнеземов с химически закрепленными четвертичными аммониевыми группами // *Журн. физ. химии.* – 2006. – Т. 80, № 7. – С.1–5.
63. Рипатти П.О., Попова Р.А., Каган Т.Б., Бехтерева З.А. Спектрофотометрическое определение желчных кислот // *Вопросы мед. химии.* – 1969. – Т. 15, № 5. – С.630–633.
64. Gong J.P., Osada Y. Theoretical analysis of the crosslinking effect on the polyelectrolyte-surfactant interaction // *J. Phys. Chem.* – 1995. – V. 99. – P.10971–10975.
65. Okusaki H., Osada Y. Effect of hydrophobic interaction on the cooperative binding of a surfactant to a polymer network // *Macromolecules.* – 1994. – V. 27. – P.502–506.
66. Гельферих Ф. Иониты. Основы ионного обмена. – М.: Изд-во иностр. лит., 1962. – 490 с.