



УДК 543-414:616-003.725

© 2010

Н. М. Гуріна, К. І. Бардахівська, Л. М. Корнєєва, В. Г. Ніколаєв

## Оцінка адсорбції деяких біологічно активних сполук ентеросорбентами різної хімічної природи

(Представлено академіком НАН України В. Ф. Чехуном)

*Досліджено адсорбцію креатиніну, ціанокобаламіну,  $\alpha$ -амілази і трипсину вуглецевими ентросорбентами АУТ і АУВМ, кремнійорганічним ентросорбентом та мікрокристалічною целюлозою. Показано, що найбільшу адсорбційну активність щодо вказаних біологічно активних сполук виявляють вуглецеві ентросорбенти АУТ і АУВМ: близько 19 мг креатиніну, 25 мг ціанокобаламіну, 155–190 мг  $\alpha$ -амілази і 110 мг трипсину з розрахунку на 1 г адсорбенту.*

Ентросорбція як метод детоксикації організму широко застосовується не лише при отруєннях, а й для лікування багатьох гострих та хронічних захворювань [1, с. 5]. Ентросорбенти при внутрішньому введенні здатні зв'язувати в шлунково-кишковому тракті екзо- і ендогенні токсини та ксенобіотики за рахунок реалізації механізмів адсорбції, абсорбції, іонообміну або комплексоутворення з наступним їх виведенням з організму. Узагальнення інформації про лікувальну дію ентросорбентів дозволило вивести кілька основних положень щодо механізмів їхньої дії [2–4]. Для оцінки сорбційних параметрів ентросорбентів медичного призначення традиційно здійснюють аналіз кінетики та ізотерм адсорбції, використовуючи як адсорбати розчини певних маркерних сполук. У такий спосіб визначають одну із основних характеристик ентросорбенту — його питому сорбційну ємність за конкретним маркером, тобто кількість адсорбату, яка може бути поглинута одиницею маси або об'єму адсорбенту при даній рівноважній концентрації. Зв'язування адсорбатів на адсорбенті лімітується саме питомою сорбційною ємністю ентросорбенту, який застосовують. Біологічно активні сполуки (БАС), що поглинаються адсорбентами, фіксуються на поверхні переважно мікропор та частини мезопор, а макропори мають незначну сорбційну активність і виконують роль транспортних каналів до мезо- та мікропор [1]. Сорбційний потенціал ентросорбентів визначають за показниками об'єму пор та питомої площі поверхні мезо- та мікропор.

Ми ставили за мету вивчення особливостей адсорбції деяких БАС ентросорбентами різної хімічної природи, що застосовуються в медицині.

**Матеріали та методи досліджень.** Як адсорбенти використовували вуглецеві волокнисті ентросорбенти АУТ і АУВМ, кремнійорганічний ентросоргель (ЕГ) та харчові

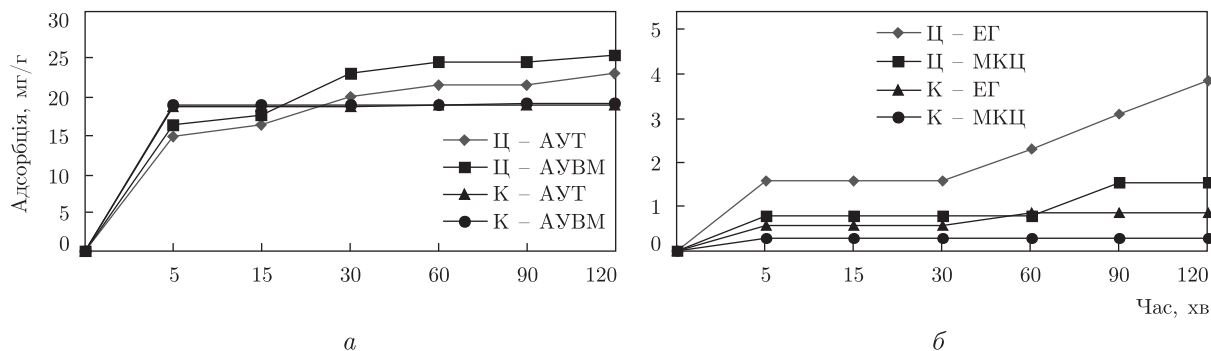


Рис. 1. Кінетичні криві адсорбції ціанокобаламіну (Ц) і креатиніну (К) вуглецевими ентеросорбентами АУТ і АУВМ (а) та ентеросгелем (ЕГ) і мікрокристалічною целюлозою (МКЦ) (б)

волокна, а саме мікрокристалічну целюлозу (МКЦ), яку застосовують при виробництві лікарських засобів.

Вуглецеві волокнисті ентеросорбенти АУТ і АУВМ мають такі структурно-сорбційні характеристики: розмір мікрочастинок 8x7x50 мкм, питома площа поверхні 1500–2000 м<sup>2</sup>/г. Пори цих адсорбентів залежно від розміру їхнього ефективного радіусу поділяють на макро- (більше 200 нм), мезо- (100–1,6 нм) та мікропори (менше 1,6 нм). ЕГ за хімічною природою є гідрогелем метилкремнієвої кислоти, органічність якого пов'язана з наявністю на поверхні розділу фаз метильних груп, гідрофільність — гідроксильних груп, а пори формуються за рахунок проміжків між мікроглобулами полісилоксанової матриці та заповнені водою [5]. Ефективний радіус пор ЕГ становить більше 100 нм, а питома площа поверхні — 150–250 м<sup>2</sup>/г. Досліджена МКЦ має розмір часток 8–12 мкм і насипну масу 0,31 г/см<sup>3</sup>.

Адсорбатами були водні розчини БАС: креатиніну (113 Да), ціанокобаламіну (вітаміну В<sub>12</sub>) (1355 Да), травних гідролаз —  $\alpha$ -амілази (~ 51–54 кДа) і трипсину (~ 24 кДа). Сорбцію проводили в статичних умовах протягом 2 год при 25 °С з розчинів таких концентрацій: креатиніну — 0,1 мг/мл, ціанокобаламіну — 0,2 мг/мл,  $\alpha$ -амілази — 1,1 мг/мл, трипсину — 1,2 мг/мл. Розчини БАС готували у 0,02 моль/л фосфатному буфері (рН 7,2). При вивченні кінетики адсорбції креатиніну і ціанокобаламіну використовували наважки ентеросорбентів АУТ і АУВМ по 0,05 г, ЕГ і МКЦ — по 0,1 г, об'єм розчину адсорбату — 10 мл. При вивченні адсорбції травних гідролаз наважки становили 0,1 та 1,0 г відповідно, об'єм розчину адсорбату — 30 мл. Через певні проміжки часу в статичних умовах відбирали аліквоти (0,3–0,5 мл) для визначення залишкової концентрації адсорбату в розчині. Аліквоти пропускали через фільтри "Millipore" 0,45 мкм. Величину адсорбції розраховували за зменшенням концентрації адсорбатів у розчині з введенням поправки на зменшення об'єму розчину після відбору проб. Концентрацію креатиніну і ціанокобаламіну визначали спектрофотометричним методом при довжині хвилі 235 і 296 нм відповідно,  $\alpha$ -амілази і трипсину — за методом Лоурі [6]. Рівновагу в системі адсорбент : адсорбат досліджували, змінюючи концентрацію розчинів ферментів і наважки адсорбентів. Час контакту вибирався достатнім для встановлення рівноваги.

**Результати та їх обговорення.** Вивчення кінетики адсорбції БАС малої та середньої молекулярної маси креатиніну і ціанокобаламіну досліджуваними ентеросорбентами показало, що 87–90% кількості адсорбатів поглиналось вуглецевими адсорбентами протягом 30 хв експозиції (рис. 1, а). Відомо, що такі сполуки сорбуються головним чином у супермікропорах (великих мікропорах) та мезопорах і є маркерами їх адсорбційної ємності [1].

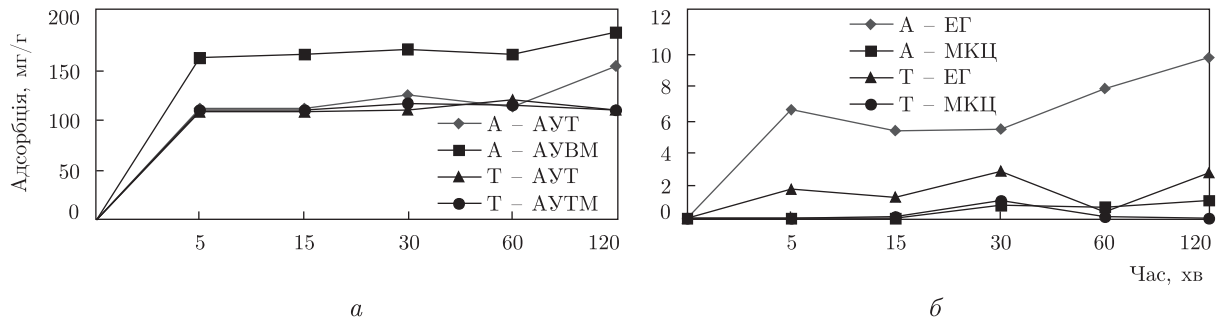


Рис. 2. Кінетичні криві адсорбції  $\alpha$ -амілази (А) і трипсину (Т) вуглецевими ентеросорбентами АУТ і АУВМ (а) та ентеросгелем (ЕГ) і мікрокристалічною целюлозою (МКЦ) (б)

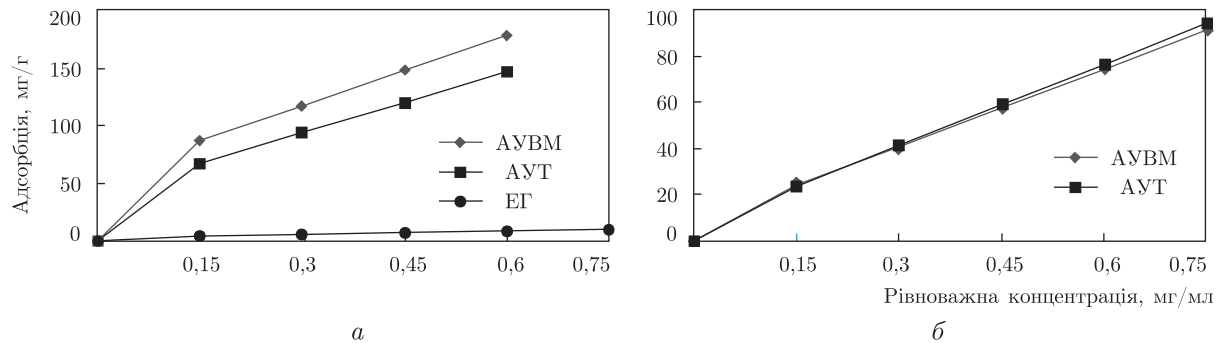


Рис. 3. Ізотерми адсорбції  $\alpha$ -амілази (а) і трипсину (б) вуглецевими ентеросорбентами АУТ і АУВМ та ентеросгелем (ЕГ)

Вуглецеві ентеросорбенти АУТ і АУВМ практично в рівній кількості адсорбували як креатинін, так і ціанокобаламін. Проте максимальна адсорбція ціанокобаламіну цими адсорбентами досягалась на 120-й хвилині процесу і становила 23,1 і 25,4 мг/г для АУТ і АУВМ відповідно. В той же час ЕГ протягом 30 хв адсорбував 42% ціанокобаламіну і 66% креатиніну. Найбільшу величину адсорбції креатиніну і ціанокобаламіну ЕГ зафіксовано на 120-й хвилині — 0,86 і 3,85 мг/г відповідно (див. рис. 1, б). Для МКЦ ці величини становили 0,3 і 1,54 мг/г відповідно.

Адсорбцію гідролітичних ферментів підшлункової залози трипсину і  $\alpha$ -амілази вивчали, використовуючи як розчинник буфер, який моделює середовище панкреатичного соку. З рис. 2 видно, що 85–90%  $\alpha$ -амілази — однієї з основних панкреатичних гідролаз — адсорбувалось вуглецевими ентеросорбентами також протягом перших 30 хв. Адсорбція  $\alpha$ -амілази на АУТ і АУВМ за цей час становила 125 і 170 мг/г адсорбенту відповідно (див. рис. 2, а), що в 23 та 30 разів перевищило показник для ЕГ — 5,5 мг/г (див. рис. 2, б). Максимальної величини адсорбція  $\alpha$ -амілази на ЕГ досягала за 120 хв і становила близько 10 мг/г. Найменшу адсорбційну активність щодо  $\alpha$ -амілази виявили харчові волокна МКЦ — 0,75 мг/г. Величина адсорбції трипсину для вуглецевих ентеросорбентів АУТ і АУВМ становила 110 і 117 мг/г адсорбенту відповідно (див. рис. 2, а), для ЕГ — близько 3 мг/г ферменту (див. рис. 2, б). МКЦ практично не адсорбувала трипсин.

На рис. 3 зображено характерні ізотерми адсорбції травних гідролаз вуглецевими ентеросорбентами АУТ і АУВМ, а також адсорбції ЕГ лише  $\alpha$ -амілази, оскільки, за даними кінетичних досліджень, адсорбція трипсину була на межі чутливості методу. Отримані ре-

зультати свідчать про те, що вуглецеві ентеросорбенти АУТ і АУВМ в рівній кількості адсорбували трипсин, проте адсорбційна ємність АУВМ щодо  $\alpha$ -амілази перевищувала на 18–22% таку для АУТ при однакових рівноважних концентраціях адсорбату. Дані адсорбції  $\alpha$ -амілази ЕГ повністю відповідали механізмам адсорбції для адсорбентів, які не мають характерної пористої структури.

Таким чином, результати вивчення адсорбції креатиніну, ціанокобаламіну, травних ферментів  $\alpha$ -амілази та трипсину вуглецевими волокнистими ентеросорбентами АУТ і АУВМ, ЕГ і харчовими волокнами на прикладі МКЦ показали, що найбільшу адсорбційну активність щодо вказаних БАС виявляють вуглецеві ентеросорбенти, а саме близько 19 мг/г креатиніну, 25 мг/г ціанокобаламіну, 155–190 мг/г  $\alpha$ -амілази і 110 мг/г трипсину. Час, за який основні гідролази панкреатичного соку адсорбуються вуглецевими ентеросорбентами в максимальній кількості (30 хв), є оптимальним для перебування ентеросорбентів у дванадцятипалій кишці. З огляду на цей факт, застосування волокнистих вуглецевих ентеросорбентів може бути ефективним щодо адсорбції ферментів при захворюваннях шлунково-кишкового тракту, що супроводжуються активацією синтезу панкреатичних гідролаз.

1. Николаев В. Г. Метод гемокорбоперфузии в эксперименте и клинике. – Киев, Наук. думка, 1984. – 360 с.
2. Николаев В. Г., Стрелко В. В., Коровин Ю. Ф. и др. Теоретические основы и практическое применение метода энтеросорбции // Сорбционные методы детоксикации и иммунокоррекции в медицине: Тез. докл. конф. – Харьков, 1982. – С. 112–114.
3. Nikolaev V. G. Enterosorption // Proc. of the 5th Intern. Symp. on Hemoperfusion and Artificial Organs / Ed. by T. M. S. Chang, H. Bing-Lin. – Tianjin: China Acad. Publ., 1984. – P. 87–99.
4. Николаев В. Г., Михаловский С. В., Гурина Н. М., Мартынов А. К. Современные энтеросорбенты и механизмы их действия // Эфферентная терапия. – 2005. – 11, № 4. – С. 3–17.
5. Клиническое применение препарата энтеросгель у больных с патологией органов пищеварения // Новые подходы к терапии: Метод. рекомендации. – Москва, 2000. – 89 с.
6. Lowry O. H., Rosebrough N. J., Farr A. L., Randall R. J. Protein measurement with the Folin phenol reagent // J. Biol. Chem. – 1951. – 193, No 1. – P. 265–275.

*Інститут експериментальної патології,  
онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького  
НАН України, Київ*

*Надійшло до редакції 27.04.2009*

**N. M. Gurina, K. I. Bardakhivska, L. N. Korneeva, V. G. Nikolaev**

### **The evaluation of the adsorption of some biologically active compounds by enterosorbents of different chemical nature**

*Adsorption of creatinine, cyanocobalamine,  $\alpha$ -amylase and trypsin by carbonic enterosorbents AUT, AUVVM, silicon-organic enterosgel, and microcrystalline cellulose is studied. It is shown that the highest adsorptive activity towards the investigated biologically active compounds is possessed by carbonic enterosorbents AUT and AUVVM: approximately 19 mg of creatinine, 25 mg of cyanocobalamine, 155–190 mg of  $\alpha$ -amylase, and 110 mg of trypsin per 1 g of adsorbents.*