

УДК 541.182:613.20

КИНЕТИЧЕСКИЕ ЗАКОНОМЕРНОСТИ ОБРАЗОВАНИЯ АССОЦИАТОВ МОЛЕКУЛ ЦИКЛОДЕКСТРИНОВ В ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

Н.В. Новоселова, Хуэйцзюань Гун, Е.П. Казачинская, А.Ф. Путилин, И.Л. Волчкова, В.Н. Калининченко, В.Н. Матвеевко

(кафедра коллоидной химии; e-mail: novosyolova@aport.ru)

Изучены поверхностные свойства водных растворов β -циклодекстрина (β -ЦД) и его оксиалкилированных производных на границе раздела с воздухом. Впервые показано, что исследуемые ЦД являются слабыми ПАВ, причем изотермы поверхностного натяжения их водных растворов имеют немонотонный характер, что связано с ассоциацией молекул ЦД. Образование ассоциатов доказано методами Ленгмюра, фотон-корреляционной спектроскопии и компьютерного молекулярного моделирования. Установлено, что при хранении происходит "старение" ЦД, в результате которого изменяются их поверхностные свойства и комплексообразующая способность.

Циклодекстрины (ЦД) относятся к циклическим олигомерам глюкозы. В последнее время ЦД активно исследуются и используются в промышленности (фармацевтической, косметической, пищевой и др.) для целенаправленного модифицирования свойств различных веществ путем образования комплексов включения типа "хозяин-гость", так как в результате комплексообразования существенно изменяются физико-химические свойства и реакционная способность молекул "гостей" [1-7]. Кроме того, в водном растворе молекулы ЦД образуют трубковидные ассоциаты, способные включать в себя молекулы разных размеров. Однако большинство исследований направлено на изучение свойств комплексов, а не индивидуальных ЦД. Целью данной работы было изучение поверхностных свойств и структуры водных растворов ЦД, а также кинетики образования ассоциатов молекул ЦД.

Экспериментальная часть

Объекты исследования. В данной работе использовали β -циклодекстрин (β -ЦД) и его оксипропилированное (β -ЦДОП) и оксиэтилированное (β -ЦДОЭ) производные, состоящие из семи единичных звеньев – остатков α -D-глюкопиранозы (рис. 1). β -ЦДОП и β -ЦДОЭ представляют собой эфирные производные β -ЦД, в которых гидроксогруппы (при C6, C2 или C3) замещены на радикал $-O-C_3H_7$ или $-O-C_2H_5$ соответственно; средняя степень замещения (число оксиалкильных радикалов на одно единичное звено) в β -ЦДОП равна 1, а в β -ЦДОЭ – 2.

Методы исследования поверхностных свойств. Поверхностные свойства водных растворов ЦД на границе раздела с воздухом изучали следующими методами:

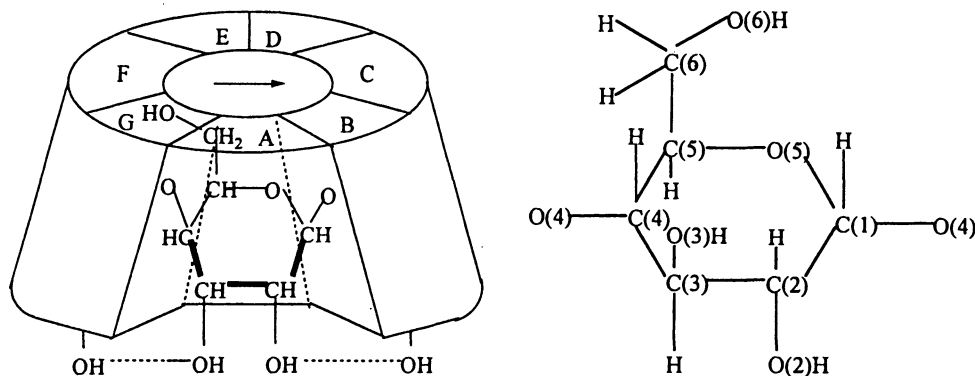


Рис. 1. Схема молекулы β -ЦД и остатка α -D-глюкопиранозы; А, В, С, D, Е, F, G – сегменты конического полого цилиндра

1) методом Вильгельми (алюминиевая пластинка, $T = 20\text{--}23^\circ\text{C}$, точность измерений 1–2%) получали изотермы поверхностного натяжения, по которым рассчитывали значения $\sigma_{\text{пред}}$ (поверхностное натяжение раствора при $c \rightarrow \infty$, ККА (критическая концентрация ассоциации), Γ_m (максимальная адсорбция при $c \rightarrow \infty$) и S (площадь, занимаемая одним ассоциатом (молекулой в случае отсутствия агрегации), на поверхности раствора);

2) методом Ленгмюра (скорость сжатия моно слоя $0,013 \text{ м}^2/\text{мин}$, субфаза – дистиллированная вода, $\text{pH } 5,96$, $T = 20\text{--}23^\circ\text{C}$, точность измерений $\pm 1\%$) получали изотермы двумерного давления, по которым рассчитывали значение площади S .

Компьютерное молекулярное моделирование. Методом молекулярной динамики с помощью программного пакета “GROMACS 3.1.2” моделировали поведение молекул β -ЦД в водном растворе. Исходную геометрию молекул брали из базы данных Cambridge, топологию генерировали на специализированном сервере PRODRG (<http://davapc1.bioch.ac.uk/programs/prodr/prodr.html>). Влияние растворителя определяли путем помещения в расчетную ячейку от 50 до 4000 молекул воды. Полученные в результате моделирования файлы с траекториями (координатами и скоростями всех атомов в системе в каждый момент времени) обрабатывали с целью определения энергетических и геометрических параметров систем, которые впоследствии использовали для минимизации зависимостей изменения полной, потенциальной (а также ее составляющих) и кинетической энергии от текущего момента времени моделирования.

Фотон-корреляционная спектроскопия. Размеры ассоциатов β -ЦДОП в водных растворах определяли методами упругого и квазиупругого светорассеяния при помощи малоуглового лазерного фотометра рассеянного света “Chromatix KMX-6/DC” (Milton Roy, США), с гелий-неоновым лазером мощностью 5 мВт и $\lambda = 633 \text{ нм}$. Перед проведением экспериментов образцы обеспыливали 5–6-кратным фильтрованием через мембранные фильтры “Millipore” с диаметром пор $0,22 \text{ мкм}$. Измерения проводили под углом рассеяния $4,5^\circ$. В случае квазиупругого светорассеяния автокорреляционные функции флуктуаций интенсивности рассеянного света получали при помощи 72-канального коррелометра “ФотоКорр-М”. Обработку данных проводили методом кумулянтов.

Обсуждение результатов

На рис. 2 и в табл. 1 показано, что исследуемые ЦД являются слабыми поверхностно-активными веществами (ПАВ), причем способность понижать поверхностное натяжение воды растет в ряду β -ЦДОЭ – β -ЦДОП – β -ЦД, тогда как величина гидрофильно-липофильного баланса (ГЛБ) в этом ряду уменьшается (38, 24 и 16,5 соответственно).

На полулогарифмической изотерме поверхностного натяжения водных растворов β -ЦДОЭ (рис. 2) можно видеть два излома, отвечающие двум ККА. Этот факт обусловлен тем, что данное вещество, синтезированное в НПО “НИОПИК”, представляет собой смесь двух стереоизомеров, в одном из которых на оксиэтильные радикалы замещены гидроксогруппы на широком торце молекулы при С2 и С3, а в другом – на обоих торцах при С6 и С2 (С3). Несмотря

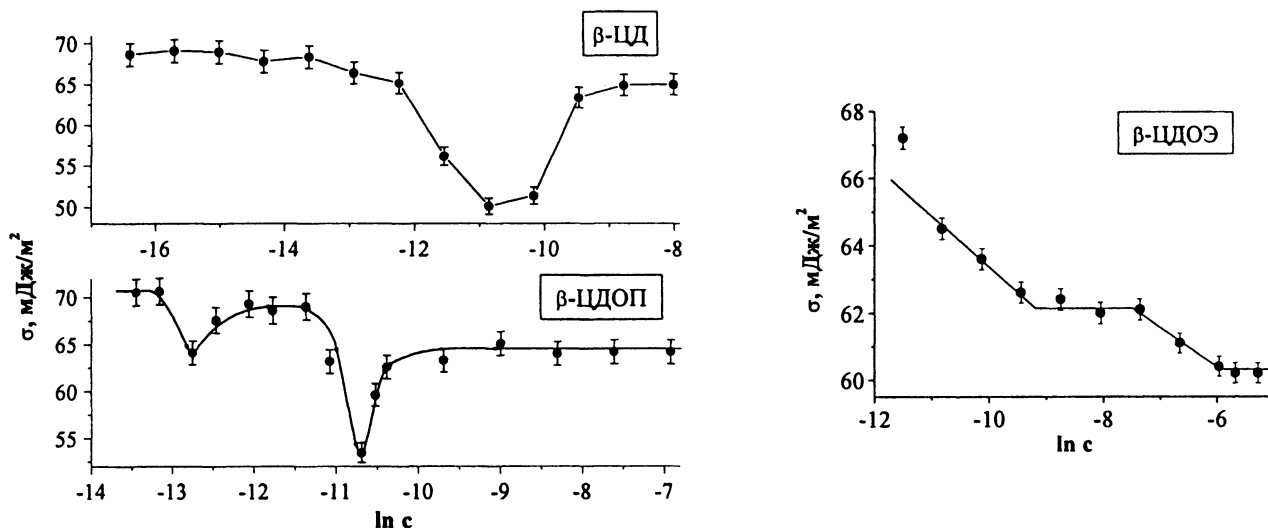


Рис. 2. Изотермы поверхностного натяжения водных растворов β -ЦД, β -ЦДОП и β -ЦДОЭ

Таблица 1

Поверхностные свойства и размерные характеристики ЦД

Вещество		$\sigma_{\text{прод}}$, мДж/м ²	ККА, моль/л	Γ_m , моль/м ²	S , Å ² [из $\sigma=f(c)$]	S , Å ² [из $\pi=f(c)$]
β-ЦД	мономеры	65,0	$2,8 \cdot 10^{-5}$	$2,0 \cdot 10^{-6}$	83 ± 4	78 ± 4
	димеры			$1,0 \cdot 10^{-6}$	166 ± 8	164 ± 8
β-ЦДОП (ассоциаты; n=5,4)		64,2	$2,3 \cdot 10^{-5}$	–	–	669 ± 33
β-ЦДОЭ		62,1	$1,0 \cdot 10^{-4}$	$1,0 \cdot 10^{-6}$	162 ± 8	эксперимент не проводился
		60,5	$2,5 \cdot 10^{-3}$	$1,3 \cdot 10^{-6}$	131 ± 7	

на то что поверхностные свойства этих изомеров мало отличаются друг от друга (табл. 1), на изотерме поверхностного натяжения водных растворов β-ЦДОЭ появляются два излома.

Изотермы поверхностного натяжения водных растворов β-ЦД и β-ЦДОП не являются классическими монотонно убывающими функциями концентрации, а имеют минимумы (рис. 2). Это возможно в двух случаях: при наличии в образце примесей и при ассоциации молекул в растворе. Для исключения первой причины были проведены ¹H-ЯМР и хроматографический анализы β-ЦД и β-ЦДОП, показавшие (в пределах чувствительности использованных методов) отсутствие каких-либо примесей: спектр ¹H-ЯМР полностью совпал с литературными данными [8], а хроматограммы не имели пятен, не относящихся к исследуемому веществу. Следовательно, минимумы на изотермах поверхностного натяжения обусловлены ассоциацией молекул ЦД в водном растворе.

Было проведено молекулярно-динамическое моделирование взаимодействия двух молекул β-ЦД в окружении молекул воды в течение 5 нс с шагом 1 фс для всех возможных вариантов расположения молекул β-ЦД относительно друг друга (“голова-голова”, “голова-хвост”, “хвост-хвост”). Результаты расчетов показали, что β-ЦД существует в растворе в виде димеров, причем максимальное взаимодействие между молекулами наблюдается в случае их начальной ориентации “голова-хвост”, что выражается в наличии пика на профиле энергии взаимодействия молекул β-ЦД именно для этой ориентации (рис. 3).

Было рассчитано среднее число водородных связей, образующихся в моделируемой системе (табл. 2). Видно, что максимальное число водородных связей между молекулами β-ЦД и водой реализовано в случае начального расположения “голова-хвост”, что

также свидетельствует об образовании в системе димера по типу “голова-хвост”.

Таким образом, с помощью компьютерного моделирования было показано, что молекулы β-ЦД в водном растворе димеризуются с ориентацией “голова-хвост”. Кроме того, об образовании димеров свидетельствуют и литературные данные [9].

Исследование водных растворов β-ЦДОП методом фотон-корреляционной спектроскопии показало, что молекулы β-ЦДОП объединяются, образуя ассоциаты со средней массой 7716 г/моль, т.е. с числом молекул $n = 5,4$ (молекулярная масса β-ЦДОП составляет 1420 г/моль).

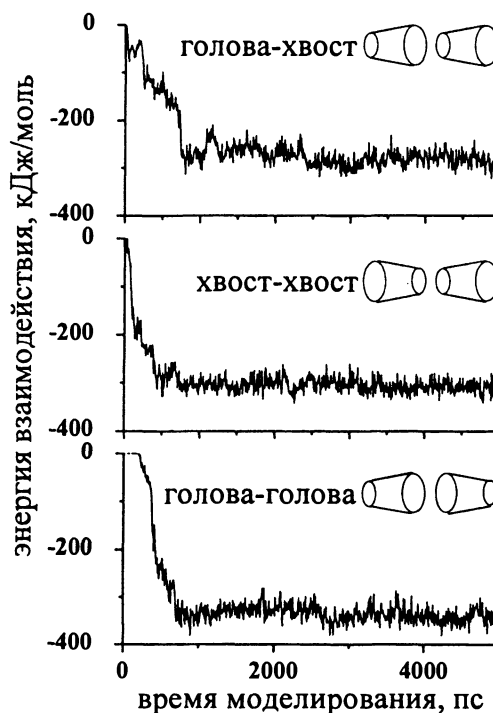


Рис. 3. Зависимость энергии взаимодействия двух молекул β-ЦД от времени моделирования

Таблица 2

Результаты молекулярно-динамического моделирования взаимодействия двух молекул β-ЦД в воде

Начальная ориентация молекул β-ЦД	“хвост-хвост”	“голова-голова”	“голова-хвост”
Начальное расстояние между молекулами β-ЦД, нм	1,52	1,57	1,50
Конечное расстояние между молекулами β-ЦД, нм	0,67	0,64	0,57
Изменение расстояния, нм	0,85	0,93	0,93
Среднее число водородных связей	21,97	21,80	22,29

Использование метода Ленгмюра позволило получить изотермы двумерного давления водных растворов β-ЦД и β-ЦДОП (рис. 4), с помощью которых были рассчитаны средние значения площадей поперечного сечения ассоциатов, хорошо согласующиеся с аналогичными величинами, вычисленными из изотерм поверхностного натяжения (табл. 1). Необходимо отметить, что средняя величина площади, занимаемая одним ассоциатом β-ЦДОП на поверхности раздела, равная 669 Å², соответствует 5,5 молекулам. Как было сказано выше, средняя масса ассоциатов β-ЦДОП, полученная из данных фотон-корреляционной спектроскопии, равна 7716 г/моль и соответствует 5,4 молекулам. Таким образом, результаты изучения структуры монослоя ЦД хорошо согласуются с расчетами двух других методов.

В процессе исследования было установлено, что изотермы поверхностного натяжения водных растворов β-ЦД и β-ЦДОП претерпевают изменения со временем (назовем их процессами “старения”) – при хранении порошкообразных веществ в течение нескольких лет и при стоянии растворов ЦД в течение

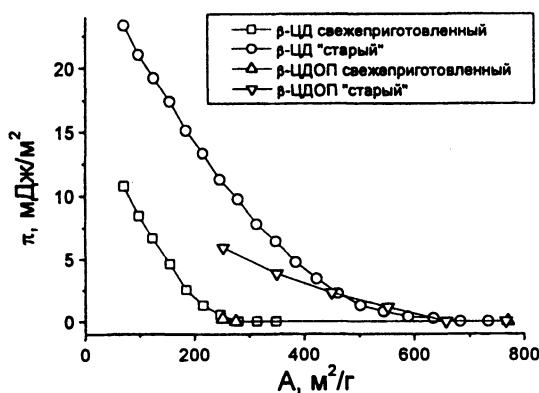


Рис. 4. Изотермы двумерного давления водных растворов β-ЦД и β-ЦДОП

двух недель. Это выражается в появлении и дальнейшем углублении минимумов (рис. 5).

По-видимому, при длительном хранении в твердом состоянии ЦД претерпевают некие необратимые химические превращения. Так как ЦД являются полисахаридами и синтезируются ферментативным путем, логично предположить, что со временем может происходить бактериальное “заражение” вещества. Однако было проведено дополнительное исследование поверхностной активности водных растворов ЦД с добавлением азида натрия, результаты которого оказались полностью идентичными результатам, полученным в отсутствие азида натрия. Очевидно, что микробиологического “заражения” ЦД не происходит. По всей видимости, “старение” ЦД заключается в перегруппировках гидроксильных групп, приводящих к уменьшению дифильности молекулы ЦД, в результате чего процесс ассоциации молекул ЦД в водном растворе существенно затрудняется. Другими словами, ассоциация происходит при более высокой концентрации и по истечении достаточно длительного времени (около двух недель). Из рис. 5 видно, что изотерма поверхностного натяжения водных растворов свежесинтезированного β-ЦД (1995 г.) имеет классический вид; исследуемое вещество находится в растворе в димеризованной форме при всех концентрациях. В то же время на изотерме поверхностного натяжения водных растворов β-ЦД, хранившегося в течение семи лет, имеется глубокий минимум; растворенное вещество представляет собой мономеры вплоть до концентрации 2,75·10⁻⁵ моль/л. При дальнейшем повышении концентрации молекулы β-ЦД начинают димеризоваться, что приводит к увеличению поверхностного натяжения, так как димеры обладают меньшей поверхностной активностью по сравнению с мономерами из-за частичного экранирования гидроксильных групп.

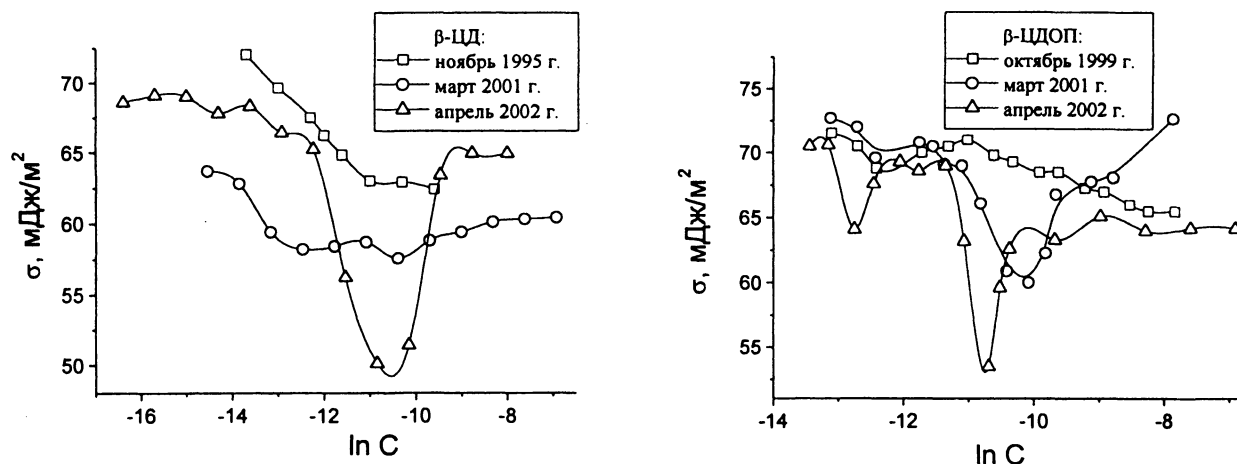


Рис. 5. Изменение изотерм поверхностного натяжения водных растворов β -ЦД и β -ЦДОП

В случае β -ЦДОП происходят аналогичные процессы “старения”, в результате которых на изотерме поверхностного натяжения появляются два минимума: первый из них относится к димеризации молекул β -ЦДОП, второй – к последующему образованию ассоциатов из 5-6 молекул β -ЦДОП.

Таким образом, процессы “старения” ЦД приводят к уменьшению склонности их молекул к ассоциации, а это в свою очередь обуславливает ухудшение комп-

лексообразующей способности, так как эффективное образование комплексов включения крупных молекул “гостей” может происходить только с ассоциатами ЦД. Данный факт, на наш взгляд, требует особого внимания с точки зрения получения и применения ЦД в промышленных масштабах, так как свойства препаратов на их основе претерпевают нежелательные и недопустимые изменения при хранении сырья и конечных продуктов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Szejtli J. // Cyclodextrins and their Inclusion Complexes. Budapest, 1982. P. 16.
2. Szejtli J., Szente L., Kulosar G., Kernoczy L.Z. // Cosmet. Toiletries. 1986. 101. N 10. P. 74.
3. Hedges A.R. // Chem. Rev. 1998. 98. P. 2035.
4. Uekama K., Fujinaga T., Otagiri M. et al. // J. Pharm. Dyn. 1981. 4. P. 726.
5. Choi Y.H., Yang Ch.H., Kim H.W., Jung S. // J. of Inclusion Phenomena and Macrocyclic Chem. 2001. 39. P. 71.
6. Матвеев В.Н., Волчкова И.Л., Пластинина О. // Вестн. Моск. ун-та. Сер. 2. Химия. 1996. 37. № 1. С. 87.
7. Матвеев В.Н., Парфентьев А.Н., Иванов А.В., Волчкова И.Л. // ЖПХ. 1996. 96. Вып. 5. С. 808.
8. Gonzalez-Gaitano G., Sanz-Garcia T., Tardajos G. // Langmuir. 1999. 15. P. 7963.
9. Miyajima K., Saevada V., Nakagaki M. // Bull. Chem. Soc. Jap. 1983. 56. N 12. P. 3556.

Поступила в редакцию 23.09.04

KINETIC REGULARITIES OF CYCLODEXTRINS MOLECULAS ASSOCIATES FORMATION IN WATER SOLUTIONS

N.V. Novosyolova, Hueiczyuan' Gun, E.P. Kazachinskaya, A.Ph. Putilin, I.L. Volchkova, V.N. Kalinichenko, V.N. Matveenko

(Division of Colloid Chemistry)

The surface properties of water solutions of β -cyclodextrin (β -CD) and its oxyalkylated derivatives on division boundary with air are studied. It is shown in the first time that the CDs under investigation are weak surfactants, and the surface tension isotherms of their water solutions are non monotonous, it is connect to CDs molecules association. The associates formation is proved by Langmuir method, photon-correlation spectroscopy and computer molecular modeling. It is established that at keeping the CDs “olding” take place, in result which the CDs surface properties and complexation ability are changed.