ФІЗИКА І ХІМІЯ ТВЕРДОГО ТІЛА
Т. 11, № 3 (2010) С. 686-689

PHYSICS AND CHEMISTRY OF SOLID STATE
V. 11, № 3 (2010) P. 686-689

УДК 544.723

ISSN 1729-4428

А.П. Василенко, Н.В. Гузенко, Л.В. Носач, Є.П. Воронін

Взаємодія желатину з нанокремнеземом, модифікованим полівінілпіролідоном

Інститут хімії поверхні НАН України, вул. Генерала Наумова, 17, Київ, 03164, Україна,
тел. 422-96-27, e-mail: e.voronin@bigmir.net

В роботі досліджено вплив модифікування поверхні непористого нанорозмірного кремнезему полівінілпіролідоном на адсорбцію желатину. Показано, що таке модифікування призводить до монотонного зменшення білоксорбуючої активності нанокремнезему, яке обумовлене зміною природи поверхневих функціональних груп.

Ключові слова: нанокремнезем, желатин, адсорбційне модифікування, полівінілпіролідон, ІЧ-спектроскопія.

Стаття поступила до редакції 20.02.2009; прийнята до друку 15.06.2010.

Вступ

Аморфний непористий нанорозмірний кремнезем (нанокремнезем) є вихідною речовиною препарату сорбційно-детоксикаційної дії «Силікс», що успішно застосовуються у комплексному лікуванні інфекційних, онкологічних та інших захворювань і патологій [1].

Адсорбційне модифікування полімерами дозволяє надавати нанокремнезему такі фізико-хімічні властивості, які необхідні для створення на його основі нових препаратів або нових лікарських форм, зокрема, готові суспензії та мазі. Було показано, що модифікування полівінілпіролідоном (ПВП) сприяє іммобілізації на поверхні нанокремнезему біологічно активних сполук, дозволяє регулювати реологічні властивості його водних суспензій, підвищує біосумісність сорбенту [2-5].

Разом з тим залишається нез'ясованим питання про вплив модифікування нанокремнезему полівінілпіролідоном на його адсорбційні властивості стосовно білків, яке має дуже важливе значення, оскільки саме протеонектичні властивості кремнезему (тобто здатність зв'язувати білкі) і визначають його фармацевтичну активність [1,6]. Тому мета даної роботи полягала у дослідженні впливу модифікування нанорозмірного кремнезему полівінілпіролідоном на адсорбцію на його поверхні білку – желатину. Такий вибір адсорбтиву бів обумовлений тим, що саме желатин, згідно вимогам АНД [7], використовується для визначення активності препарату.

I. Методика експерименту

Як сорбент було використано високодисперсний кремнезем з величиною питомої поверхні 230 $м^2/г$ (виробництва Калуського дослідного заводу ІХП НАНУ, м. Калуш, Україна). Такий нанокремнезем складається з частинок сферичної форми діаметром приблизно 12 нм. На поверхні наночастинок містяться поодинокі ізольовані гідроксильні групи ≡Si–OH (силанольні групи); гідроксильні групи, зв'язані взаємним водневим зв'язком у різних комбінаціях, а також молекулярна вода [3]. Концентрація силанольних груп – головних сорбційних центрів – на поверхні використовуваного кремнезему становить 0,60 ммоль/г.

Як модифікатор використали фармакопейний ПВП з молекулярною масою 11940 ± 2400. Модифікування нанокремнезему полімером проводили в реакторі інтенсивного перемішування (РІП), який являє собою скляну круглодонну колбу ємністю 1 л і має лопасну мішалку, таким чином. В реактор послідовно завантажували кремнезем, необхідну наважку модифікатора і вмикали мішалку. При досягненні 300-500 об/хв суміш переходила у псевдозріджений стан. Потім поступово зі швидкістю 1-2 краплі за секунду в реактор прикапували етиловий спирт у кількості 0,4 г на 1 г кремнезему, який при цьому залишався сипучим внаслідок своєї високої маслоємності, тобто здатності зберігати порошкоподібний стан при адсорбції рідини. Час модифікування складав 6 год. Модифікований нанокремнезем вивантажували і прогрівали в

сушильній шафі при 80 °С протягом 2 год. для видалення сорбованих молекул етанолу.

В роботі використовували желатин фірми «Мерк». Адсорбцію желатину на поверхні нативного і модифікованих кремнеземів проводили при pH = 5 [1,9] в статичних умовах при кімнатній температурі з буферних розчинів, що містили 0,1 М лимонну кислоту і 0,2 М Na_2HPO_4 [11]. В колби поміщали по 200 мг кремнезему, наливали по 20 + 0,05 мл розчину білку заданої концентрації (співвідношення сорбент-розчин завжди було однаковим – 100 мг:10 мл) і одержану суспензію перемішували. Через 1 год. контакту (цього часу цілком достатньо для встановлення адсорбційної рівноваги [1,6,10]) суспензію центрифугували при 6000 об/хв. протягом 30 хв.

Величину адсорбції желатину розраховували як різницю його вихідної і рівноважної концентрацій у розчині до і після контакту з сорбентом. Рівноважну концентрацію желатину визначали колориметрично біуретовим методом [11]. Оптичну густину розчину вимірювали за допомогою колориметра КФК-2МП при довжині хвилі 540 нм.

Спектральні дослідження проводилися на спектрометрі з Фур'є-перетворенням "Термо-Ніколет" (Nicolet Instrument Corporation, США). Зразки досліджуваних кремнеземів пресували в пластинки розміром 8 × 28 мм та масою 20 ± 0,5 мг у спеціальній пресформі.

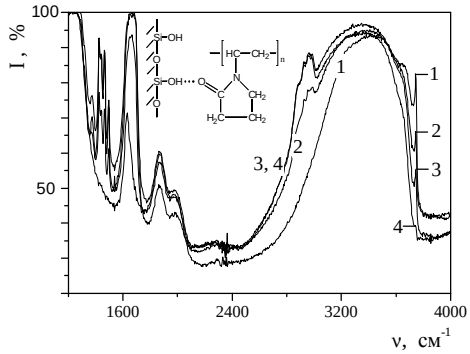
II. Результати експерименту та їх обговорення

Для модифікованих зразків нанокремнезему в ІЧ-спектрах спостерігається зменшення інтенсивності смуги 3750 $см^{-1}$, симбатне вмісту ПВП, і поява широкої смуги збуджених силанольних груп з максимумом біля 3350 $см^{-1}$ (рис. 1, а).

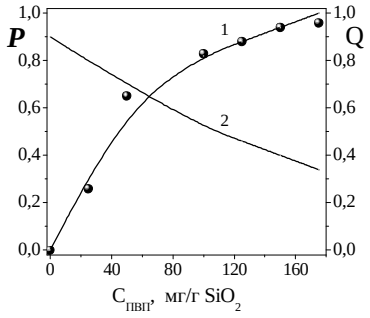
Раніше нами було показано [12], що взаємодія ПВП с поверхнею нанокремнезему відбувається за рахунок утворення водневих зв'язків між атомами кисню карбонільної групи і водню силанольної групи.

Важливим показником, що характеризує структуру поверхневого адсорбованого шару полімерів, є параметр р, який являє собою відношення кількості мономерних ланок макромолекули, що безпосередньо взаємодіють з поверхнею, до їх загального вмісту у шарі. З наведеної залежності параметра р від вмісту ПВП для досліджених зразків (рис. 1. б), розрахованого з ІЧ-спектрів, видно, що при невеликих ступенях модифікування у взаємодії з поверхнею беруть участь до 80 % ланок, а при утворенні моношарового покриття – приблизно 40 %, тобто практично кожна друга ланка. Це означає, що молекули полімера знаходяться на поверхні в вигляді плаского зигзагоподібного ланцюга [12].

Шар ПВП міцно утримується на поверхні нанокремнезему і до вмісту полімера приблизно



а)



б)

Рис. 1. а) ІЧ-спектри нативного (1) і модифікованого нанокремнеземів, що містять 50 (2), 100 (3) і 175 мг/г (4) ПВП; б) залежність ступеня покриття поверхні кремнезему Θ (1) і параметра ***p*** від вмісту ПВП (2).

75 мг/г при pH = 5 практично не десорбується у воду. При перевищенні такої кількості ПВП починає частково десорбуватися, однак навіть при моношаровому покритті, яке досягається уже при вмісті полімера 175 мг/г, величина десорбції становить всього приблизно 15 % (рис. 2).

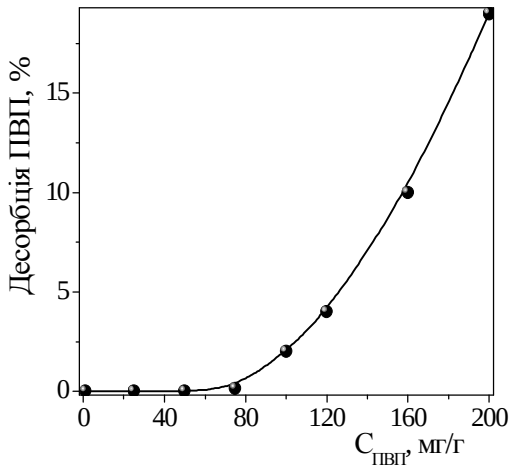


Рис. 2. Залежність величини десорбції ПВП у водне середовище від його вмісту на поверхні модифікованого нанокремнезему.

Ізотерми адсорбції желатину на поверхні нанокремнезему (рис. 3) добре описуються рівнянням Ленгмюра [1]. В координатах С/А-С вони мають вид прямих ліній, звідки було визначено

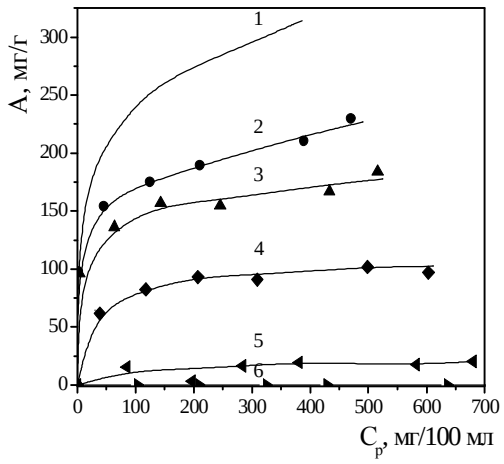


Рис. 3. Ізотерми адсорбції желатину на поверхні нативного (1) и модифікованого кремнеземів із вмістом ПВП у кількості 25 (2), 50 (3), 100 (4), 125 (5) і 150 мг/г (6).

величини максимальної адсорбції $A_{макс.}$ на досліджених зразках, що відповідає за визначенням [13] ємностям моношару.

Залежність ємності моношару желатину від вмісту ПВП у поверхневому шарі (рис. 4) показує, що величина $A_{макс}$, яка склала у випадку нативного кремнезему приблизно 350 мг/г, для повністю

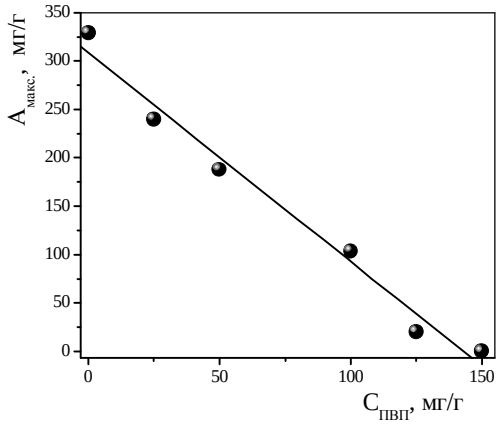


Рис. 4. Залежність величини максимальної адсорбції желатину від вмісту ПВП на поверхні нанокремнезему.

модифікованого зразка знизилась до нуля.

Слід відзначити, що сам факт зменшення адсобції білку на поверхні кремнезему, що містить ПВП, в літературі наведено для силікагеля [14]. Причини цього автори роботи детально не аналізували, однак та обставина, що силікагель є пористою речовиною, а модифікування поверхні проводили шляхом полімеризації сорбованого вінілпіролідону, дозволяв пояснити зменшення адсорбції білку заповненням пор полімером.

Але у випадку непористого нанокремнезему стеричні причини зменшення адсорбції желатину на поверхні модифікованих зразків малоймовірні. Для виявлення факторів, які обумовлюють характер одержаної залежності (рис. 4), було проаналізовано зміни будови поверхневого шару кремнезему в результаті модифікування. Головна з них, на нашу думку, полягає в тому, що поверхня модифікованого кремнезему замість силанольних груп, які беруть участь у взаємодії з макромолекулами ПВП, тепер містить карбонільні групи вінілпіролідонових ланок (рис. 5). Це призвело до того, що нанокремнезем,

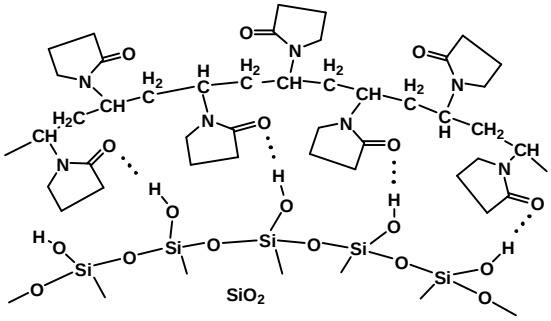


Рис. 5. Схематичне зображення структури адсорбованого шару ПВП на поверхні нанокремнезему.

який у нативному стані належав згідно класифікації, запропонованій А.В.Кисельовим [15], до специфічних адсорбентів т.зв. "другого" типу, тобто мав поверхню, що містила протолітичні групи, у даном випадку – гідроксильні (кислотні центри Брьонстеда), після модифікування стає адсорбентом "третього" типу, що містить на поверхні тільки апротонні електронодонорні групи (основні центри Льюїса).

Макромолекули желатину складаються з поліпептидних ланцюгів, типову структуру яких наведено на рис. 6 [16 -18]. Головними активними функціональними групами желатину є

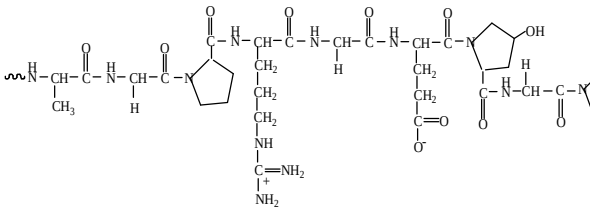


Рис. 6. Схематичне зображення первинної структури макромолекули желатину (-Ala-Gly-Pro-Arg-Gly-Glu-4Hyp-Gly-Pro-)

електронодонорні карбонільні і електроноакцепторні амінні. У складі молекули присутні також біфункціональні гідроксильні групи оксипроліну, однак їх загальна кількість невелика (~10%), причому значна їх частина бере участь в утворенні міжмолекулярних і внутрішньомолекулярних водневих зв’язків [19, 20].

Карбонільні групи в пептидах значно більші за розміром, ніж амінні (довжина зв’язку C=O становить 0,123 нм, а N-H – 0,1 нм [21], а атомні радіуси кисню і водню – відповідно 0,6 та 0,37 нм [22]), тому саме вони визначають можливість

взаємодії з поверхнею кремнезему. При наявності на поверхні силанольних груп відбувається утворення численних водневих зв'язків між ними і карбонільними групами пептидного угрупування, що і забезпечує міцну адсорбцію білків [1,9,23]. Присутність на поверхні замість силанольних груп карбонільних призводить до взаємного відштовхування макромолекул желатину і модифікованого нанокремнезему, і в результаті до зменшення або до повної відсутності адсорбції білку.

Висновки

Таким чином, одержані результати свідчать про те, що модифікування непористого нанорозмірного кремнезему полівінілпіролідоном супроводжується монотонним зменшенням його адсорбційної активності стосовно желатину, яке обумовлене зміною природи поверхневих активних центрів.

Василенко А.П. – аспірант;
Гузенко Н.В. – кандидат хімічних наук, науковий співробітник;
Носач Л. В. – кандидат хімічних наук, науковий співробітник;
Воронін Є.П. – кандидат хімічних наук, старший науковий співробітник, завідувач лабораторії.

[1] А.А. Чуйко. *Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния.* Наукова думка, К. 416 с. (2003).
[2] В. Гузенко, О.Е. Воронина, Н.Н. Власова, Е.Ф. Воронин. *Журнал прикладной спектроскопии,* **71**(2), сс. 141-144 (2004).
[3] О.А. Казакова, В.М. Гунько, Н.А. Липковская, Е.Ф. Воронин, В.К. Погорелый. *Коллоидный журнал,* **64**(4), сс. 461-467 (2002).
[4] Н.В. Гузенко, О.Е. Воронина, Е.М. Пахлов, Е.Ф. Воронин. *Химико-фармацевтический журнал,* **35**(1), сс. 46-49 (2001).
[5] Л.С. Андрійко, О.Л. Габчак, В.І. Зарко Є.П. Воронін, В.М. Гунько, О.О. Гацький, І.І. Геращенко // *Фармацевтичний журнал,* (1), сс. 83-87 (2007).
[6] А.А. Чуйко (ред.). *Кремнеземы в медицине и биологии.* Киев-Ставрополь. (1993).
[7] ФС 42У-82/224-889-00 Силикс.
[8] А.А. Чуйко (ред.). *Химия поверхности кремнезёма,* УкрИНТЭИ, Киев. (2001).
[9] Ю.И. Тарасевич, В.А. Смирнова, Л.И. Монахова. // *Коллоидный журналл,* **40**(6), сс. 1214-1216 (1978).
[10] Є.П. Воронін, Є.М. Пахлов, Н.М. Власова, С.С. Сільченко, Л.П. Головкова, О.О. Чуйко. // *Фармацевтичний журнал,* **4**, сс. 61-64 (1999).
[11] Р. Досон. Д. Эллиот, У. Эллиот, К. Джонс. *Справочник биохимика.* Мир, Москва. (1991).
[12] В. Гузенко, Е.М. Пахлов, Н.А. Липковская, Е.Ф. Воронин. // *Журналл прикладной химии,* **74**(12), сс. 1957-1961 (2001).
[13] Ю.Г. Фролов. *Курс коллоидной химии.* Химия, Москва. (1982).
[14] Т.Д. Хохлова. // *Вестн. Моск. Ун-та. Сер. 2. Химия,* **43**(3), сс. 144-146 (2002).
[15] А.В. Киселев, В.И. Лыгин. *Инфракрасные спектры поверхностных соединений.* Наука, Москва. (1972).
[16] H. Babin and E. Dickinson, 15, сс. 271-276 (2001).
[17] D. Oakenfull and A. Scott, 17, pp. 207-210 (2003).
[18] A. Bigi, S. Panzavolta and K. Rubini, 25, pp. 5675-5680 (2004).
[19] D.A. Ledward. *Gelation of gelatin, in Functional properties of food macromolecules,* ed. J. R. Mitchell and D.A. Ledward (Elsevier Applied Science Publishers Ltd, 1986) pp. 171-201.
[20] А. Вейс. *Макрохимия желатина.* Пищевая пр-ть, Москва. (1971).
[21] А.А. Анисимов (ред). *Основы биохимии.* Высшая школа, Москва. (1986).
[22] Л. Паулинг. *Природа химической связи.* Госхимиздат, Москва. (1947).
[23] Р. Айлер. *Химия кремнезёма: пер с англ,* Мир, Москва. (1982).

A.P. Vasilenko, N.V. Guzenko, L.V. Nosach, E.F. Voronin

Interaction Between Gelatine and Nanosilica Modified with Interaction Between Gelatine and Nanosilica Modified with Polyvinylpyrrolidone

O.O. Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17, General Naumov str., 03164 Kiev, Ukraine, e.voronin@bigmir.net

The effect of non-porouos nanosilica surface modification with polyvinylpyrrolidone on its adsorption properties in respect to gelatine (proteonectic properties) is studied in the paper. It was shown that the modification results in monotone reduction of proteonectic properties of silica due to change in nature of surface active sites.