

АДСОРБЦИЯ ЖЕЛАТИНА НА ВЫСОКОДИСПЕРСНОМ КРЕМНЕЗЕМЕ, СОДЕРЖАЩЕМ ВИТАМИНЫ

И.Б. Бажура, И.В. Лагута, О.А. Казакова, О.Н. Ставинская, П.А. Кузема

*Институт химии поверхности им. А.А. Чуйко Национальной академии наук Украины
ул. Генерала Наумова 17, 03164 Киев-164*

Изучена адсорбция желатина из водных растворов на кремнеземе, содержащем тиамин, пиридоксин или аскорбиновую кислоту. Установлено, что иммобилизация биомолекул на поверхности кремнезема уменьшает адсорбцию желатина. Предполагается, что разная адсорбционная активность биокомпозитов по отношению к желатину обусловлена не только особенностями взаимодействия витамин – кремнезем, но и витамин – желатин.

Введение

Создание биокомпозитов пролонгированного действия на основе высокодисперсного кремнезема предполагает использование его не только как матрицы-носителя для биологически активных молекул, но и как активного компонента. Биологическая активность кремнезема в биокомпозите определяются его высокой адсорбционной способностью по отношению к токсичным соединениям белковой природы и к белкам клеточных мембран [1]. Однако вопрос об адсорбционных свойствах кремнезема в составе комплексных препаратов остается недостаточно изученным. Известно, что после контакта высокодисперсного кремнезема с растворителем наблюдается агрегация частиц, что может привести к частичной потере адсорбционной активности высокодисперсного кремнезема, в частности, к уменьшению адсорбции белков [2]. К уменьшению адсорбции биополимеров может, по-видимому, приводить также иммобилизация на кремнеземе низкомолекулярных биомолекул. Целью настоящей работы было изучить адсорбционную способность кремнезема с иммобилизованными витаминами по отношению к белковому препарату – желатину.

Экспериментальная часть

Высокодисперсный кремнезем А-300 с удельной поверхностью 253 м²/г (г. Калуш, Украина) использовали в качестве адсорбента. Биокомпозиты с витаминами получали путем адсорбции тиамина (витамин В₁), пиридоксина (витамин В₆) или аскорбиновой кислоты (витамин С) на высокодисперсном кремнеземе из водных и спиртовых растворов, количество витаминов в композите составляло 20 – 50 мкмоль/г; подробная методика получения композитов описана в работах [3, 4, 5, 6].

Адсорбцию желатина (Fluka) из водных растворов на исходном кремнеземе, на кремнеземе, высушенном после контакта с растворителем (спиртом или водой), и на биокомпозитах изучали в статических условиях при температуре 20 – 25 °С, рН ~ 5. К 0,05 г биокомпозита или исходного кремнезема добавляли 10 мл 0,1 – 1,0 % раствора желатина, перемешивали в течение 1 ч, центрифугировали и отбирали надосадочную жидкость. К 1 мл супернатанта добавляли 4 мл биуретового реактива [7] и через 30 мин определяли оптическую плотность полученного раствора при длине волны 560 нм в кювете с толщиной слоя 10 мм. Спектры измеряли с использованием спектрофотометра «Lambda» «PerkinElmer» UV/VIS.

Свободная энергия адсорбции ($\Delta G_{\text{адс}}$), структурные и электронные параметры

кластеров кремнезема, их адсорбционных комплексов с витаминами и аминокислотой аргинином были получены полуэмпирическим методом РМЗ с использованием сольватационной модели SM5.42 (программный пакет GAMESOL, версия 3.1) [8]. Метод РМЗ завышает значения энергий адсорбции, но при сравнительном анализе взаимодействия ряда различных адсорбатов с одним и тем же адсорбентом ошибка нивелируется.

Результаты и их обсуждение

Результаты по адсорбции желатина на кремнеземе, обработанном растворителем и содержащем биомолекулы, представлены на рис. 1.

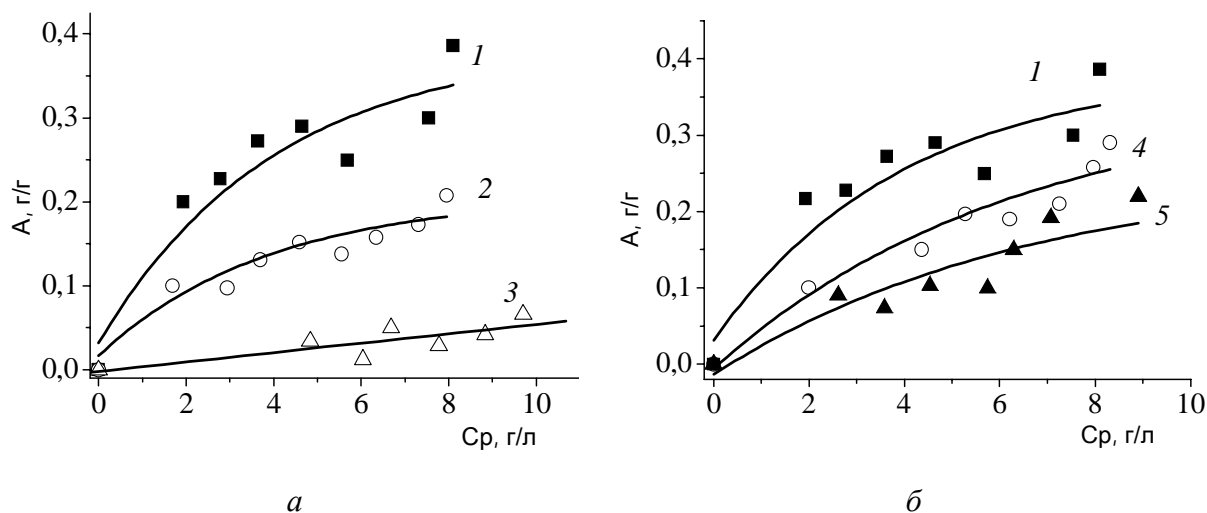
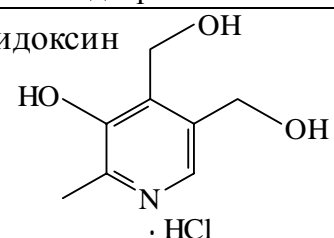
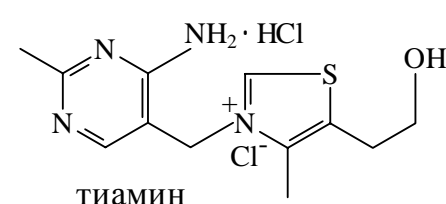


Рис. 1. Изотермы адсорбции желатина из водных растворов на исходном кремнеземе (1), кремнеземе после контакта со спиртом (2), кремнеземе с адсорбированной аскорбиновой кислотой (3), пиридоксином (4) и тиамином (5). Витамины адсорбированы из спиртовых (а) и водных (б) растворов.

Известно, что при адсорбции высокомолекулярных соединений может происходить вытеснение низкомолекулярных веществ с поверхности кремнезема [9], т. е. присутствие витаминов (аскорбиновой кислоты, тиамин и пиридоксин) не должно сказываться на адсорбции желатина. Полученные данные показывают, однако, что количество желатина, адсорбированного на поверхности кремнезема, обработанного растворителем, и на поверхности биоконпозитов, уменьшается по сравнению с исходным кремнеземом. Уменьшение адсорбции желатина на кремнеземе после контакта с растворителем или с раствором витамина можно объяснить изменением размеров и формы частиц адсорбента. Различия в адсорбционной способности кремнеземов с иммобилизованными биомолекулами могут быть обусловлены неодинаковой прочностью связывания витаминов с поверхностью. В табл. 1 приведены данные о взаимодействии кремнезема с тиамином и пиридоксином, полученные в работах [4, 6]. Результаты табл. 1 показывают, что сродство к поверхности кремнезема для тиамин значительно выше, чем для пиридоксин; соответственно, десорбция тиамин с поверхности кремнезема осуществляется медленнее, и адсорбция желатина уменьшается (рис. 1, кривые 4, 5).

В табл. 2 приведены результаты квантово-химических расчетов свободной энергии адсорбции витаминов B_1 и B_6 на кремнеземе, а также данные о взаимодействии кремнезема с положительно заряженной аминокислотой аргинином, моделирующей фрагмент молекулы желатина (рис. 2).

Таблица 1. Физико-химические параметры адсорбции пиридоксина и тиамина на кремнеземе из водных растворов

Адсорбат	A_{∞} , мкмоль/г	K , л/моль	R
<p>пиридоксин</p>  <p>· HCl</p>	16±3	432±37	0,91
<p>тиамин</p> 	50±6	5071±552	0,94

A_{∞} – предельная адсорбция; K – константа адсорбционного равновесия; R – коэффициент корреляции для линеаризованной формы изотермы Ленгмюра.

Таблица 2. Энергетические параметры адсорбции тиамина, пиридоксина и аргинина на кремнеземе для различных адсорбционных комплексов

Адсорбционный комплекс	$\Delta G_{адс}$, кДж/моль
$B_1^+ \dots O^- Si \equiv$	-104
$B_6^{\pm} \dots O^- Si \equiv$	-28
$Arg^+ \dots O^- Si \equiv$	-58

$\Delta G_{адс}$ – свободная энергия адсорбции

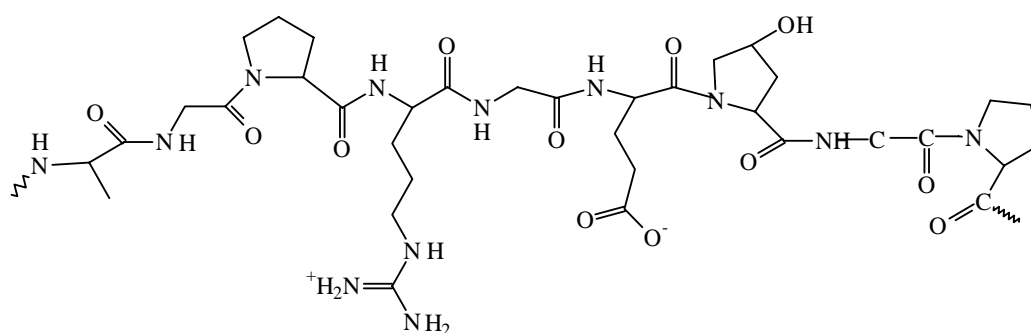
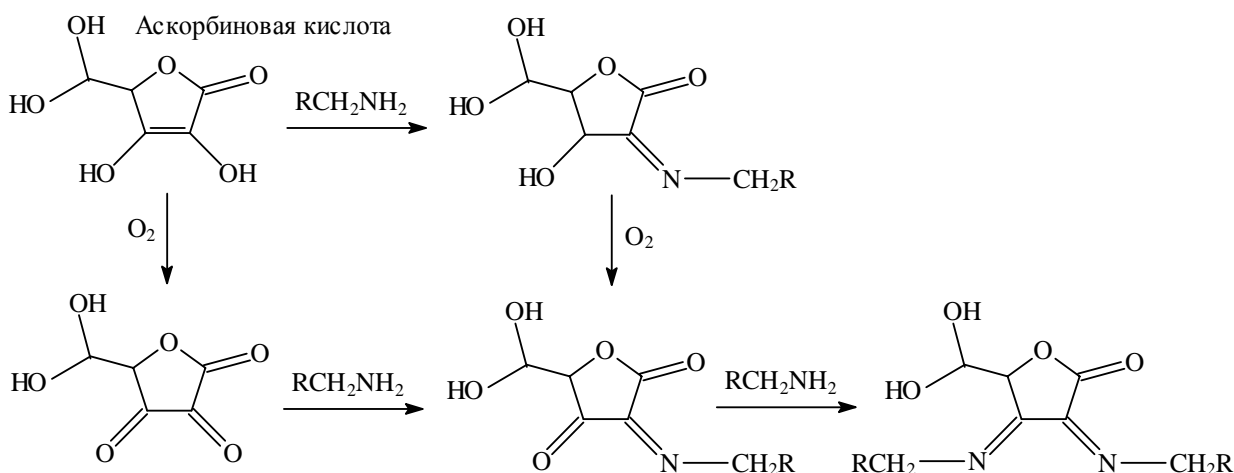


Рис. 2. Структурная единица молекулы желатина [10].

Выбранные для расчетов катион B_1^+ и цвиттер-ион B_6^{\pm} являются формами тиамина и пиридоксина, преобладающими в растворе в условиях нашего эксперимента (pH~5) [3, 6]. Аргининовый остаток представляет собой фрагмент желатина, положительно заряженный в широком диапазоне pH ($pK_a \sim 12$) и способный взаимодействовать с $\equiv Si-O^-$ группами поверхности кремнезема. Сравнение полученных для различных адсорбционных комплексов значений $\Delta G_{адс}$ показывает, что тиамин может более активно конкурировать с желатином за отрицательно заряженные центры поверхности адсорбента. Следует отметить также, что приведенные результаты не отражают, конечно, полной картины взаимодействий в системе кремнезем – витамин – желатин, в частности, не

учитывают возможность многоточечной адсорбции желатина.

Аскорбиновая кислота слабо адсорбируется на кремнеземе из спиртового раствора и очень быстро десорбируется с поверхности кремнезема при контакте с водой. Можно было бы ожидать поэтому, что присутствие аскорбиновой кислоты не окажет существенного влияния на адсорбцию желатина. Вместе с тем, полученные данные (рис. 1, кривая 3) показывают, что присутствие аскорбиновой кислоты приводит к значительному уменьшению адсорбции желатина. Согласно литературным данным, аскорбиновая кислота может взаимодействовать с аминокруппами, вызывая сшивание белков [11, 12]. Поэтому уменьшение адсорбции желатина на кремнеземе в присутствии витамина С может быть обусловлено не изменением свойств кремнезема, а уменьшением количества положительно заряженных аминокрупп в молекуле желатина в результате их связывания с аскорбиновой кислотой по схеме [13]:



Выводы

Таким образом, обработка высокодисперсного кремнезема растворителем и иммобилизация на его поверхности биомолекул уменьшает адсорбционную активность кремнезема по отношению к соединениям белковой природы, что может приводить, с одной стороны, к уменьшению адсорбции токсинов белковой природы и, с другой стороны, к увеличению биосовместимости композитов.

Авторы благодарят проф. В.М. Гунько за предоставленную возможность использования программного пакета GAMESOL (версия 3.1).

Литература

1. Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Под ред. А.А. Чуйко. – Киев: Наук. думка, 2003. – 415 с.
2. Aqueous suspensions of fumed oxides: particle size distribution and zeta potential / V.M. Gun'ko, V.I. Zarko, R. Lebeda, E. Chibowski. // Adv. Colloid Interface Sci. – 2001. – V. 91, № 1. – P. 1 – 112.
3. Адсорбция тиаминa на высокодисперсном кремнеземе / Н.Н. Власова, Н.К. Давиденко, В.И. Богомаз и др. // Укр. хим. журн. – 1991. – Т. 57, № 12. – С. 1277 – 1280.
4. Ставинская О.Н., Лагута И.В., Кузема П.А. Адсорбционные свойства высокодисперсных кремнезёмов с частично гидрофобизованной поверхностью // Журн. физ. химии. – 2006. – Т. 80, № 8. – С. 1482 – 1485.

5. Interaction of ascorbic acid with hydrophilic-hydrophobic silicas / I.V. Laguta, O.N. Stavinskaya, P.O. Kuzema et al. // ANNALES Universitatus Curie-Sklodowska – 2007. – V. LXII. – P. 124 – 135.
6. Interaction of pyridoxine with hydrophilic-hydrophobic highly dispersed silica / I. Laguta, O. Stavinskaya, P. Kuzema, O. Kazakova // Polish J. Chem. – 2008. – V. 82. – P. 85 – 92.
7. Государственная фармакопея СССР, XI изд. – М.: Медицина, 1990. – Вып. 2. – С. 30.
8. Xidos J.D., Li J., Zhu T., Hawkins G.D., Thompson J.D., Chuang Y.-Y., Fast P.L., Liotard D.A., Rinaldi D., Cramer C.J., and Truhlar D.G., GAMESOL–version 3.1, University of Minnesota, Minneapolis, 2002, based on the General Atomic and Molecular Electronic Structure System (GAMESS) as described in Schmidt, M. W., Baldrige K.K., Boatz J.A., Elbert S.T., Gordon M.S., Jensen J.H., Koseki S., Matsunaga N., Nguyen K. A., Su S.J., Windus T.L., Dupuis M., and Montgomery J.A. // J. Comp. Chem. – 1993. – № 14. – P. 1347.
9. Гунько В.М. Конкурентная адсорбция // Теорет. и эксперим. химия – 2007. – Т. 43, № 3. – С.133 – 169.
10. Synthesis of biocompatible hydrophobic silica–gelatin nano-hybrid by sol–gel process / S. Smitha, P. Shajesh, P. Mukundana et al. // Coll. and Surf. B: Biointerfaces. – 2007. – V. 55. – P. 38 – 43.
11. Лавренов С.Н., Преображенский М.Н. L-аскорбиновая кислота. Свойства и методы химической модификации // Хим.-фарм. журн. – 2005. – Т. 39, № 5. – С. 26 – 39.
12. Reaction of ascorbic acid with aliphatic amines / M. Pischetsrieder, B. Larisch, U. Müller, Th. Severin // J. Agric. Food Chem. – 1995. – V. 43. – P. 3004 – 3006.
13. Tiller J., Berlin P., Klemm D. A novel efficient enzyme-immobilization reaction on NH₂ polymers by means of L-ascorbic acid // Biotechnol. Appl. Biochem. – 1999. – V. 30. – P. 155 – 162.

GELATIN ADSORPTION ON HIGH DISPERSED SILICA CONTAINING VITAMINS

I.B. Bazhura, I.V. Laguta, O.A. Kazakova, O.N. Stavinskaya, P.A. Kuzema

*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
General Naumov Str. 17, 03164, Kyiv-164*

Gelatin adsorption from aqueous solutions on silica containing thiamine, pyridoxine or ascorbic acid has been studied. Immobilization of biomolecules on silica surface was found to decrease the adsorption of gelatin. Various adsorption activity of the biocomposites with respect to gelatin is assumed to be related to both vitamin – silica and vitamin – gelatin interactions.