

УДК 544.723

СОРБЦИЯ АРОМАТИЧЕСКИХ АМИНОКИСЛОТ НА ДИСПЕРСНОМ КРЕМНЕЗЕМЕ, ХИМИЧЕСКИ МОДИФИЦИРОВАННОМ β -ЦИКЛОДЕКСТРИНОМ

Н.В. Роик*, Л.А. Белякова, М.А. Дзязько

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

*Осуществлен синтез β -циклодекстринсодержащего кремнезема в мягких условиях с использованием 1,1'-карбонилдиимидазола в качестве сшивающего агента. Изучена сорбция *n*-аминобензойной и *n*-аминосалициловой кислот на кремнеземах с различным строением поверхностного слоя в зависимости от длительности контакта, равновесной концентрации и pH раствора. Показано, что химическая иммобилизация β -циклодекстрина на поверхности кремнезема приводит к увеличению параметров адсорбции ароматических аминокислот благодаря образованию поверхностных комплексов включения привитых молекул олигосахаридов с аминокислотами. Экспериментальные результаты обработаны с привлечением математических моделей для кинетики адсорбции и равновесной сорбции на поверхности твердых тел.*

ВВЕДЕНИЕ

Начальным этапом становления супрамолекулярной химии было изучение комплексов природных и синтетических макроциклических лигандов, краун-эфиров и криптандов с катионами щелочных металлов [1–3]. Позднее получило развитие направление супрамолекулярной химии, связанное с синтезом соединений, которые способны образовывать комплексы включения типа "хозяин–гость" с органическими молекулами [4–6]. Наиболее востребованным на сегодняшний день объектом супрамолекулярной химии является β -циклодекстрин (β -ЦД) – циклический олигосахарид, получаемый путем ферментативного превращения крахмала. Он имеет торообразную форму, стабилизированную водородными связями между ОН-группами, а также гликозидными связями. Благодаря внутренней гидрофобной полости β -ЦД обладает уникальной способностью к комплексообразованию по типу "хозяин–гость" в водных растворах. Необходимым условием образования прочных комплексов включения является комплементарность молекул "гостя" и "хозяина", которая предполагает соответствие геометрических параметров и энергетических взаимодействий.

Образование ассоциатов различной прочности с гибко изменяющейся структурой может быть использовано в процессах разделения и контролируемого высвобождения биологически активных соединений [7]. Однако извлечение комплексов включения, например, " β -ЦД – биологически активное соединение" из водных растворов осложняется их высокой растворимостью, обусловленной гидрофильными спиртовыми группами молекул "хозяина". Решением этой проблемы может быть химическое закрепление β -ЦД на поверхности кремнеземов – неорганических носителей с гидролитически устойчивым каркасом. В настоящее время используют несколько основных подходов для получения модифицированных β -ЦД кремнеземов: импрегнирование носителя [8, 9], полимеризация в поверхностном слое [10], золь-гель синтез [11] и, наконец, химическая иммобилизация [12], которая, по нашему мнению, наиболее перспективна, т.к. позволяет получать органокремнеземы с прогнозируемым строением поверхностного слоя, несущего одинаково доступные и прочно удерживаемые адсорбционные центры.

Большинство β -ЦД-содержащих органокремнеземов синтезировано путем химического закрепления на поверхности кремнеземов функциональных производных β -циклодекстрина

* контактный автор roik_nadya@ukr.net

с помощью amino/амидо связей [13–17]. Однако реакции азидирования [13, 14], тозилрования [15], аминирования [16], силанизации [17] β -циклодекстрина, широко используемые для его активации и последующей прививки на поверхности кремнезема/органокремнезема, относятся к трудоемким и длительным процессам.

В представленной работе рассматривается новый подход к синтезу β -ЦД-содержащего кремнезема, который заключается в химической иммобилизации β -циклодекстрина, активированного 1,1'-карбонилдиимидазолом (КДИ), на поверхности аминопропилкремнезема. Известно, что КДИ может связывать две нуклеофильные группы у одного атома углерода, благодаря чему широко применяется для химического модифицирования твердых подложек [18–24]. Однако прививка макромолекул β -ЦД к поверхности кремнезема с использованием КДИ в литературе не описана. Эффективность синтезированного β -ЦД-содержащего кремнезема в процессах извлечения биологически активных ароматических аминокислот была изучена на примере *n*-аминобензойной (*n*-АБК) и *n*-аминосалициловой (*n*-АСК) кислот, обладающих терапевтическим эффектом в отношении витилиго, склеродермы, герпеса, артрита [25–28] и туберкулеза [29–31] соответственно.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В качестве исходного кремнезема использовали силохром С-120 с удельной поверхностью $118 \text{ м}^2/\text{г}$ и размером частиц $0,3\text{--}0,5 \text{ мкм}$ (Россия). Перед химическим модифицированием кремнезем прогревали на воздухе при 400°C в течение 2 ч для удаления примесей органических соединений. Концентрация свободных силанольных групп на поверхности термически подготовленного кремнезема составляет $0,49 \pm 0,02 \text{ ммоль/г}$.

β -ЦД (Fluka, чистота $\geq 99\%$), *n*-АБК (Merck, чистота $\geq 99\%$), *n*-АСК (АВСР, чистота $\geq 99\%$), (3-аминопропил)триэтоксисилан (Merck, чистота $\geq 99\%$), КДИ (Китай, чистота $\geq 99\%$), стандарт-титры фосфатного буфера (РИАП, Украина), феррицианид калия (Реахим, "ч"), а также серную кислоту, гидроокись натрия, карбонат натрия (все реактивы Реахим, "хч") применяли без предварительной очистки.

Толуол, *N,N'*-диметилформамид ДМФА и ацетон (Реахим, "чда") перед использованием сушили в течение 72 ч над активированными молекулярными ситами NaA.

ИК спектры исходного и химически модифицированных кремнезёмов записывали в частотном диапазоне $4000\text{--}1200 \text{ см}^{-1}$ на спектрофотометре Thermo Nicolet NEXUS FT-IR (Nicolet, США).

pH растворов измеряли с помощью иономер И-120.1.

УФ спектры *n*-АБК, *n*-АСК и феррицианида калия после контакта с растворами глюкозы записывали в диапазоне длин волн $220\text{--}350 \text{ нм}$ на спектрофотометре Specord M-40 (Carl Zeiss, Германия). Для измерений использовали кварцевые кюветы с $l = 1$ и 10 мм .

Диаграммы распределения протолитических форм *n*-АБК и *n*-АСК, а также силанольных и аминопропильных групп кремнезёмов рассчитывали с помощью программы CURTIPOT v. 3.5.4 (Guts, 2010).

Содержание изолированных силанольных групп на поверхности кремнезема определяли по хемосорбции диметилхлорсилана [32].

Количество привитых аминокислот и кажущиеся константы ионизации рассчитывали по уравнению Гендерсона-Гассельбаха $\text{pK} = \text{pH} + \lg [(1 - \alpha) / \alpha]$ при $\alpha \rightarrow 0$ [33], используя данные потенциометрического титрования аминопропилкремнезема $0,01 \text{ М}$ соляной кислотой.

Для определения количества β -ЦД, химически закрепленного на поверхности аминопропилкремнезема, навеску органокремнезема ($\sim 100 \text{ мг}$) кипятили с 15 мл 1 М H_2SO_4 в течение 2 ч (кислотный гидролиз β -ЦД до глюкозы [34]). Затем отделяли фильтрованием твердую фазу, доводили pH раствора до 7 с помощью 5 М NaOH и разбавляли до 50 мл дистиллированной водой. 2 мл полученного раствора кипятили в стеклянной колбе в течение 10 мин с 25 мл $0,05\%$ феррицианида калия, растворенного в 1% водном растворе Na_2CO_3 . После охлаждения раствора концентрацию глюкозы определяли (в виде окрашенного комплекса с феррицианидом калия) по величине оптической плотности полосы поглощения с $\lambda_{\text{макс}} = 420 \text{ нм}$ [34]. Калибровочный график строили в диапазоне $0\text{--}160 \text{ мкг/мл}$ глюкозы. Содержание привитого β -ЦД рассчитывали по уравнению

$$[\beta\text{-ЦД}] = \frac{C \cdot V}{7 \cdot m}, \quad (1)$$

где $[\beta\text{-ЦД}]$ – содержание $\beta\text{-ЦД}$ на поверхности кремнезема, моль/г; C – концентрация глюкозы в растворе, моль/л; V – объем раствора, л; m – навеска $\beta\text{-ЦД}$ -содержащего кремнезема, г.

Сорбцию ароматических аминокислот изучали при 22°C и постоянном pH методом отдельных навесок (навески по 0,05 г, объем растворов 10 мл). В кинетических опытах к серии навесок кремнезёмов приливали одинаковые объемы 0,001 М раствора *n*-АБК (или *n*-АСК) в фосфатном буфере с pH=3,6 (или pH=6,86). Полученные суспензии перемешивали, а затем твердую фазу отделяли от раствора через 15, 30, 45, 60, 90, 120, 240 и 300 мин с помощью целлюлозного фильтра с диаметром пор 2,5 нм. Содержание *n*-АБК и *n*-АСК в фильтрах определяли по величине оптической плотности полос поглощения при 283 и 299 нм соответственно. Величину сорбции аминокислот на кремнеземах рассчитывали по уравнению

$$a_t = \frac{(C_o - C_t)V}{m}, \quad (2)$$

где a_t – сорбция в момент времени t , моль/г; C_o и C_t – начальная концентрация адсорбтива и его концентрация в момент времени t соответственно, моль/л; V – объем раствора, л; m – навеска кремнезема, г.

При изучении равновесной сорбции использовали растворы *n*-АБК и *n*-АСК с концентрацией 0,0002–0,0040 М. Суспензии кремнезёмов перемешивали с помощью магнитной мешалки до установления равновесия, затем отделяли твердую фазу от равновесных растворов. Фильтраты анализировали спектрофотометрически. Величины равновесной сорбции *n*-АБК и *n*-АСК на кремнеземах рассчитывали, как описано выше.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе осуществлена трехстадийная химическая иммобилизация $\beta\text{-ЦД}$ на поверхности кремнезема в мягких условиях: 1) модифицирование поверхности кремнезема аминопропильными группами; 2) активирование $\beta\text{-ЦД}$ с помощью 1,1'-карбонилдиимидазола; 3) прививка активированного $\beta\text{-ЦД}$ к поверхности аминопропилкремнезема.

Синтез аминопропилкремнезема. Кремнезем, прогретый при 400°C в течение 2 ч, помещали в трехгорлый реактор, снабженный роторной мешалкой и обратным холодильником, приливали небольшое количество толуола и перемешивали 40 мин при комнатной температуре. Затем добавляли (3-аминопропил)триэтоксисилан и реакционную смесь нагревали при 110°C в течение 6 ч. Модифицированный кремнезем промывали на стеклянном фильтре сначала толуолом для удаления следовых количеств силана (отсутствие фиолетового окрашивания при добавлении нингидрина), затем ацетоном, дистиллированной водой (для гидролиза эфирных групп) и снова ацетоном. Синтезированный аминопропилкремнезем сушили на воздухе при 150°C в течение 6 ч. Реакция химического модифицирования поверхности кремнезема (3-аминопропил)триэтоксисиланом представлена на схеме 1:

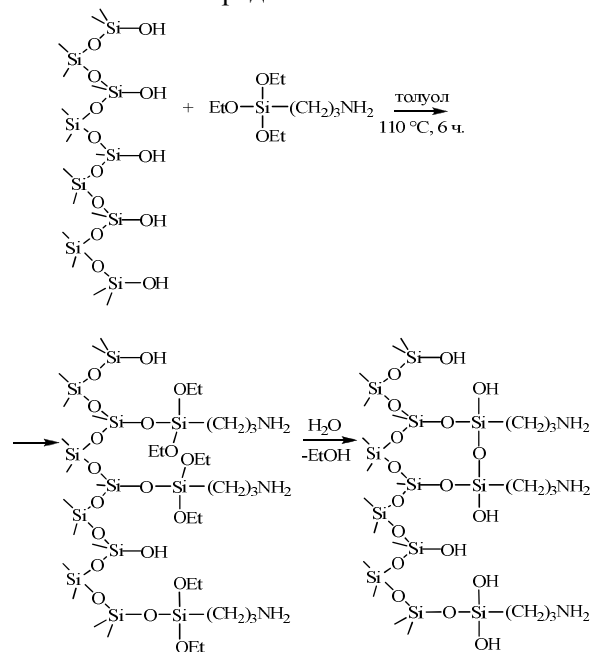


Схема 1. Синтез аминопропилкремнезема

В ИК спектре кремнезема, модифицированного (3-аминопропил)триэтоксисиланом, регистрируются полосы поглощения валентных и деформационных колебаний связей С–Н силана: 2962, 2926, 2855 и 1380 см^{-1} (рис. 1, спектры 1–3). Кроме того, проявляются характеристические полосы поглощения деформационных колебаний связи N–H в первичных аминогруппах (1585 и 1548 см^{-1}) [35]. Такой вид ИК спектра свидетельствует о химическом закреплении аминопропильных групп на поверхности кремнезема.

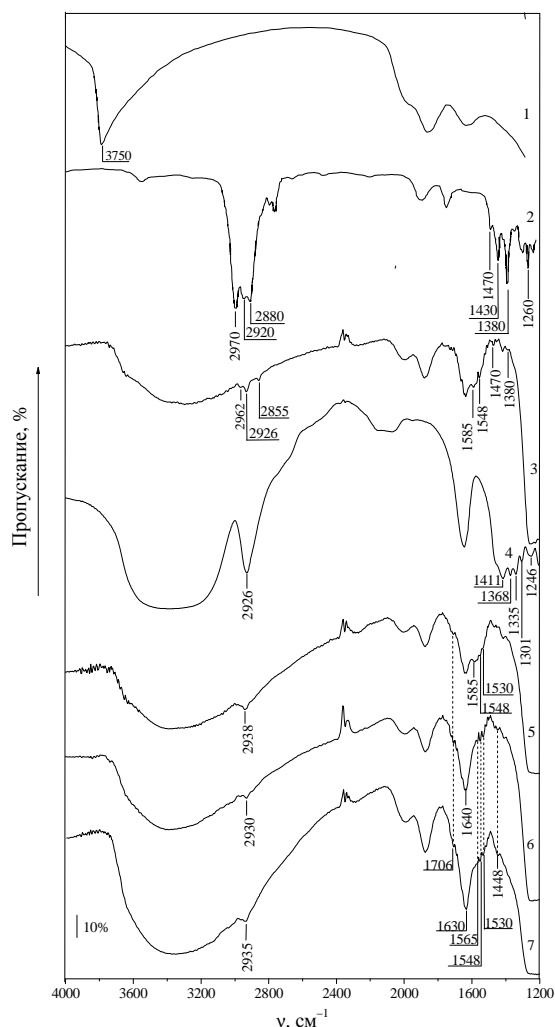


Рис. 1. ИК спектры силохрома С-120 (1), (3-аминопропил)триэтоксисилана (2), аминопропилкремнезема (3), β -циклодекстрина (4), β -ЦД-содержащего кремнезема до (5) и после сорбции *n*-АБК (6) и *n*-АСК (7)

Количество привитых аминопропильных групп, определенное методом потенциометрического титрования, составляет 0,24 ммоль/г. Константа основности pK_b аминопропилкремнезема равна 4,2 (для *n*-пропиламина $pK_b = 3,5$). Уменьшение основности аминопропильных групп является результатом их химического закрепления на поверхности кремнезема.

Синтез β -ЦД-содержащего кремнезема.

Осушенный β -ЦД помещали в реактор, снабженный мешалкой, и растворяли в небольшом количестве обезвоженного ДМФА. Затем к раствору β -ЦД при перемешивании добавляли по каплям эквивалентное количество КДИ, растворенное в ДМФА, и выдерживали при 20°C в течение 2 ч. Трехкратный избыток

активированного β -ЦД (по отношению к содержанию аминопропильных групп в аминопропилкремнеземе) добавляли постепенно при перемешивании в стеклянный реактор, содержащий суспензию аминопропилкремнезема в ДМФА. Модифицирование поверхности аминопропилкремнезема активированным β -ЦД осуществляли при 20°C в течение 20 ч, после чего органокремнезем отфильтровывали и промывали последовательно ДМФА, ацетоном, дистиллированной водой и ацетоном. Синтезированный органокремнезем сушили на воздухе при 100°C в течение 2 ч, затем охлаждали до комнатной температуры и хранили в эксикаторе.

Процесс химического закрепления функционального производного β -ЦД в поверхностном слое кремнезема представлен схемами 2 и 3.

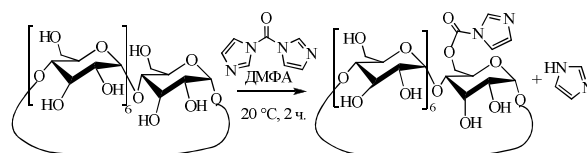


Схема 2. Активация β -циклодекстрина 1,1'-карбонилдимидазолом

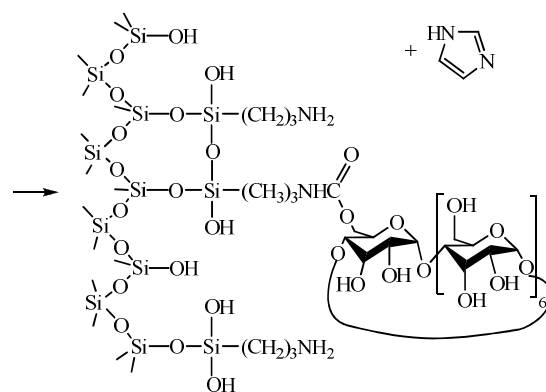
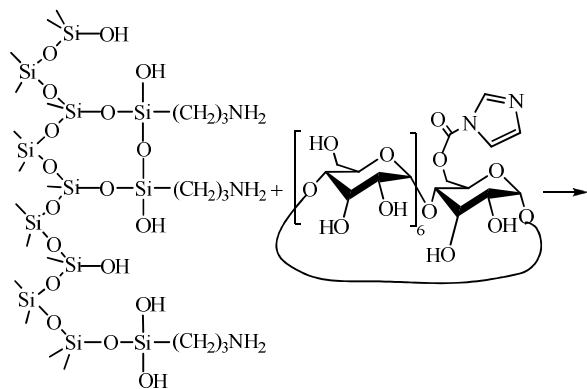


Схема 3. Синтез β -ЦД-содержащего кремнезема

Активацию макромолекул β -ЦД осуществляют путем конденсации их гидроксильных групп с КДИ. В результате наблюдается образование нетоксичного вещества – имидазола. Существенного изменения pH реакционной среды, а, следовательно, и растворения кремнеземной матрицы не происходит. Побочный продукт реакции (имидазол) легко удаляется с поверхности β -ЦД-содержащего кремнезема при промывке водой.

Химическая иммобилизация β -ЦД на поверхности кремнезема была подтверждена спектрально. В ИК спектре аминопропилкремнезема после взаимодействия с β -ЦД, активированным 1,1'-карбонилдиимидазолом (рис. 1, спектры 3–5), появляется характеристическая полоса поглощения с максимумом при 2938 см^{-1} , принадлежащая валентным колебаниям связи C–H в CH- и CH₂-группах циклодекстринового кольца. Кроме того, регистрируются полосы поглощения валентных колебаний связи C=O в карбонильных группах и деформационных колебаний связи N–H во вторичных аминогруппах при 1706 и 1530 см^{-1} соответственно. Их появление доказывает прохождение реакции конденсации между имидазольным эфиром β -ЦД и аминопропильными группами поверхности кремнезема согласно схеме 3. Вместе с тем, в ИК спектре β -ЦД-содержащего кремнезема (рис. 1, спектр 5) присутствуют также полосы поглощения с максимумами при 1585 и 1548 см^{-1} , принадлежащие деформационным колебаниям связи N–H первичных аминогрупп. Это свидетельствует о частичном участии первичных аминопропильных групп органокремнезема в химической прививке макромолекул β -ЦД.

Количество β -циклодекстрина в поверхностном слое полученного органокремнезема составляет $0,024\text{--}0,033$ ммоль/г в зависимости от степени осушки ДМФА, используемого в качестве растворителя при синтезе. Содержание иммобилизованного β -циклодекстрина не может превышать $0,08$ ммоль/г, поскольку его посадочная площадка, рассчитанная из геометрических параметров молекулы β -ЦД [4], $2,34\text{ нм}^2$. Более низкая степень прививки β -ЦД вызвана стерическими препятствиями, затрудняющими молекулам имидазольного эфира β -циклодекстрина свободный доступ к активным центрам поверхности аминопропил-

кремнезема, а также образованием водородных связей между спиртовыми группами соседних молекул β -ЦД, химически связанных с поверхностью кремнезема.

Изучение сорбции. Ранее нами было показано [36, 37], что β -ЦД образует в водных растворах *n*-АБК и *n*-АСК комплексы включения типа "хозяин–гость" состава 1:1. Однако химическая иммобилизация "хозяина" (β -ЦД) на твердом носителе может существенным образом повлиять на процесс комплексообразования. В настоящей работе изучено влияние химической природы и строения поверхности функциональных кремнезёмов (схема 4) на сорбцию *n*-АБК и *n*-АСК (табл. 1).

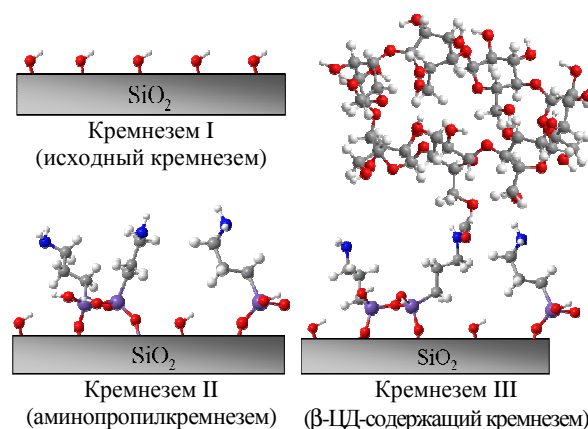


Схема 4. Строение поверхностного слоя кремнеземных сорбентов

Табл. 1. Некоторые физико-химические характеристики ароматических аминокислот

| Ароматическая аминокислота | М.м. | T _{пл} , °C | pK _{a1} | pK _{a2} | S*, г/л | lg K _{o/w} ** |
|----------------------------|------|----------------------|------------------|------------------|---------|------------------------|
| <i>n</i> -АБК | 137 | 187 | 2,41 | 4,87 | 4,7 | 0,98 |
| <i>n</i> -АСК | 153 | 147 | 1,79 | 3,63 | 2,0 | 0,89 |

* S – растворимость в воде при 20°C

** lg K_{o/w} – коэффициент распределения между *n*-октанолом и водой

Кинетика сорбции. Кинетика сорбции *n*-АБК и *n*-АСК на поверхности кремнезёмов I–III была исследована при pH = 3,60 и 6,86 соответственно. Кинетическая кривая сорбции *n*-АБК для кремнезема III стремительно растёт и быстро достигает насыщения (рис. 2а, кривая 3), в то время как для кремнезёмов I и II равновесие устанавливается медленнее, а величины равновесной сорбции значительно меньше (рис. 2а, кривые 1, 2).

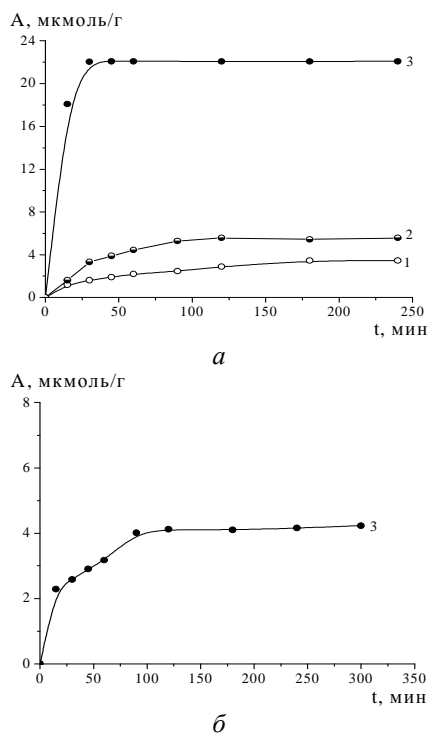


Рис. 2. Кинетические кривые сорбции *n*-АБК (*a*) и *n*-АСК (*б*) при pH = 3,60 и 6,86 соответственно на кремнеземах I–III (кривые 1–3)

Поскольку величина равновесной сорбции *n*-АСК на кремнеземе III незначительна (рис. 2б), то кинетику ее сорбции на кремнеземах I и II не изучали. Для описания кинетики процесса физической сорбции ароматических аминокислот использовали математические модели Лагергрена для реакций псевдопервого и Хо-МакКея для реакций псевдвторого порядка (табл. 2).

Табл. 2. Кинетические модели адсорбции и их линеаризованные формы

| Кинетическая модель адсорбции | Уравнение кинетики адсорбции | Линеаризованная форма уравнения |
|-------------------------------|--|---|
| Лагергрэн | $\lg \left(\frac{a_p}{a_p - a_t} \right) = \frac{k_1}{2,303} t$ | $\lg(a_p - a_t) = \lg a_p - \frac{k_1}{2,303} t$ |
| Хо-МакКей | $\frac{1}{(a_p - a_t)} = \frac{1}{a_p} + k_2 t$ | $\frac{t}{a_t} = \frac{1}{k_2 a_p^2} + \frac{1}{a_p} t$ |

Значения констант скорости и равновесной адсорбции рассчитывали из линейных графических зависимостей, построенных в координатах кинетических уравнений псевдопервого и псевдвторого порядка. Зависимости $\lg(a_p - a_t)$ и t/a_t от времени показывают, что сорбция *n*-АБК и *n*-АСК лучше описывается кинетической моделью реакции псевдвторого порядка: коэффициент корреляции для псевдвторого порядка выше, чем для псевдопервого (табл. 3, 4). Кроме

того, экспериментальные значения a_p хорошо согласуются с данными, рассчитанными по линеаризованной форме уравнения Хо-МакКея. Следовательно, это кинетическое уравнение можно использовать для характеристики процесса сорбции *n*-АБК и *n*-АСК на кремнеземах I–III.

Табл. 3. Параметры адсорбции для ароматических аминокислот и коэффициенты корреляции, рассчитанные по уравнению Лагергрена

| Аминокислота | Кремнезем | $k_1, \text{мин}^{-1}$ | $a_p, \text{мкмоль}\cdot\text{г}^{-1}$ | R^2 |
|---------------------------|-----------|------------------------|--|-------|
| <i>n</i> -АБК (pH = 3,60) | I | 0,013 | 2,74 | 0,993 |
| | II | 0,034 | 7,00 | 0,988 |
| | III | – | – | 0,652 |
| <i>n</i> -АСК (pH = 6,86) | III | 0,016 | 1,98 | 0,911 |

Табл. 4. Параметры адсорбции для ароматических аминокислот и коэффициенты корреляции, рассчитанные по уравнению Хо-МакКея

| Аминокислота | Кремнезем | $k_2, \text{г}\cdot\text{мкмоль}\cdot\text{мин}^{-1}$ | $a_p, \text{мкмоль}\cdot\text{г}^{-1}$ | R^2 |
|---------------------------|-----------|---|--|-------|
| <i>n</i> -АБК (pH = 3,60) | I | 0,0048 | 4,16 | 0,994 |
| | II | 0,0053 | 6,41 | 0,994 |
| | III | 0,0669 | 21,91 | 0,999 |
| <i>n</i> -АСК (pH = 6,86) | III | 0,0117 | 4,52 | 0,998 |

Равновесная сорбция. На рис. 3, 4 представлены экспериментальные результаты изучения равновесной сорбции ароматических аминокислот на кремнеземах I–III.

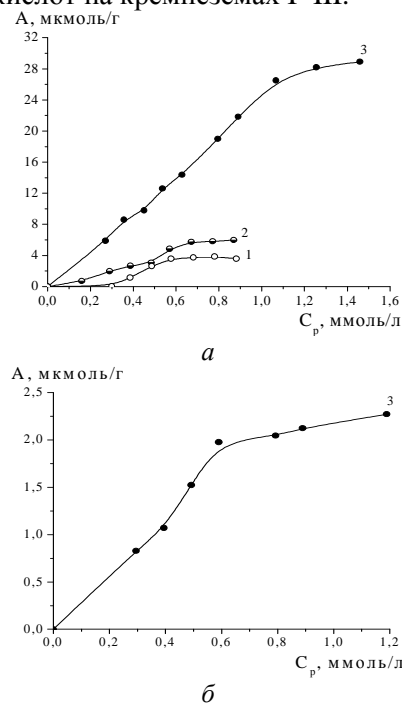


Рис. 3. Изотермы сорбции *n*-АБК при pH = 3,60 (*a*) и 6,86 (*б*) на кремнеземах I–III (кривые 1–3)

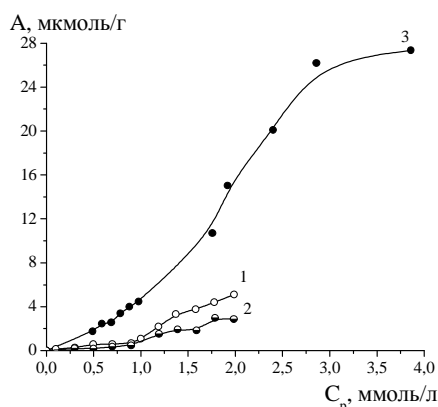


Рис. 4. Изотермы сорбции *n*-АСК при pH = 6,86 на кремнеземах I–III (кривые 1–3)

Сорбцию *n*-АБК проводили из растворов в фосфатных буферах, в которых *n*-АБК существует предпочтительно в молекулярной (pH = 3,60) и анионной (pH = 6,86) формах (схема 5, табл. 5).

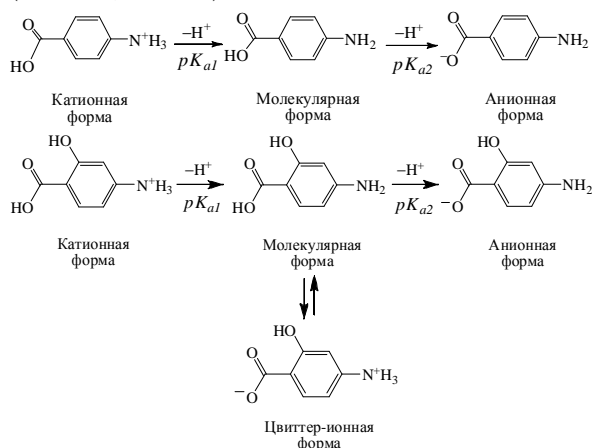


Схема 5. Протолитические формы *n*-АБК и *n*-АСК

Табл. 5. Распределение мольных долей α протолитических форм ароматических аминокислот

| pH | <i>n</i> -АБК | | | <i>n</i> -АСК | | |
|------|-------------------|---------------|----------------|-------------------|---------------|----------------|
| | $\alpha_{H_2^+A}$ | α_{HA} | α_{A^-} | $\alpha_{H_2^+A}$ | α_{HA} | α_{A^-} |
| 3,60 | 0,058 | 0,894 | 0,048 | 0,008 | 0,513 | 0,479 |
| 6,86 | 0 | 0,012 | 0,988 | 0 | 0,001 | 0,999 |

Как видно из рис. 3а, сорбционная емкость β -ЦД-содержащего кремнезема III по отношению к молекулярной форме *n*-АБК на порядок больше, чем для кремнезёмов I и II, содержащих только силанольные и аминопропильные группы в поверхностном слое. При pH = 3,60 силанольные группы находятся в нейтральной форме, в то время как около 80% аминопропильных групп положительно заряжены (табл. 6).

Табл. 6. Распределение мольных долей α протолитических форм силанольных и аминопропильных групп кремнезёмов

| pH | $\equiv Si(CH_2)_3NH_2$ | | $\equiv SiOH$ | |
|------|-------------------------|-----------------|-----------------|------------------|
| | $\alpha_{NH_3^+}$ | α_{NH_2} | α_{SiOH} | α_{SiO^-} |
| 3,60 | 0,799 | 0,201 | 0,999 | 0,001 |
| 6,86 | 0,003 | 0,997 | 0,557 | 0,443 |

Поэтому основной вклад в сорбционный процесс дают водородные связи между аминогруппами *n*-АБК и силанольными группами кремнезёмов I и II. Как следствие, изотермы сорбции *n*-АБК на кремнеземах с силанольными и аминопропильными группами имеют пологую форму. Характер сорбции *n*-АБК на кремнеземе III (рис. 3а, кривая 3) существенно иной: в области малых равновесных концентраций адсорбтива изотерма имеет прямолинейный участок (изотерма Генри) с высоким сродством молекулярной формы *n*-АБК к кремнезему III. Следовательно, макромолекулы β -ЦД, химически привитого к поверхности кремнезема, вносят основной вклад в сорбцию *n*-АБК. С увеличением pH раствора до 6,86 происходит переход *n*-АБК из молекулярной в ионную форму, а также диссоциация силанольных групп поверхности кремнезема. В результате снижается стабильность поверхностных комплексов включения и усиливается электростатическое отталкивание между анионами адсорбтива и ионизированными силанольными группами. Сорбция *n*-АБК на кремнеземе III уменьшается (рис. 3б).

Изучение сорбции молекулярной формы *n*-АСК осложняется тем, что в растворе она сосуществует с цвиттер-ионом, склонным к декарбоксилированию [37]. Поэтому сорбцию *n*-АСК на кремнеземах I–III проводили из растворов фосфатного буфера с pH = 6,86, в котором *n*-аминосалициловая кислота присутствует в анионной форме. Сорбция *n*-АСК на β -ЦД-содержащем кремнеземе при pH = 6,86 (рис. 4) значительно превышает поглощение *n*-АБК (рис. 3б). Это может быть связано с различиями химического строения аминокислот. В соответствии с принципом "ключ–замок", сформулированным Эмилем Фишером [38], комплементарность размера, формы и полярности молекул "хозяина" и "гостя" являются основными факторами, влияющими на стабильность комплексов включения. Однако геометрическая оптимизация молекул изученных

ароматических аминокислот (схема б), выполненная с помощью программы Hyper Chem, свидетельствует о том, что полное погружение в полость β-ЦД возможно для обеих "гостевых" молекул.

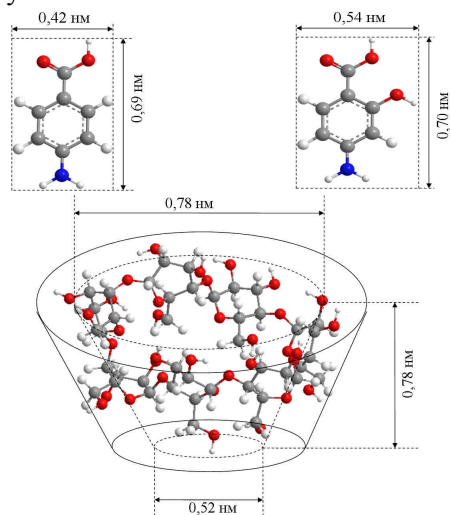


Схема б. Геометрические параметры *n*-АБК, *n*-АСК и β-ЦД

Следовательно, в нашем случае определяющее влияние на стабильность поверхностных комплексов включения имеет полярность молекул "гостя". Фенольная группа, расположенная в *o*-положении к карбоксильной, оказывает стабилизирующее действие на *n*-аминосалицилат-анион вследствие образования внутримолекулярной водородной связи. В случае *n*-аминобензоат-аниона нескомпенсированная электронная плотность является причиной большей его полярности, а следовательно, и более слабого связывания с β-ЦД, химически закрепленным на поверхности кремнезема. Полученные результаты находятся в хорошем соответствии с исследованиями межмолекулярных взаимодействий β-ЦД с ионизированными лекарственными препаратами в водных растворах [36, 37, 39]. Существенные различия в сорбционной способности кремнезема III по отношению к *n*-АБК и *n*-АСК при pH=6,86 позволяют прогнозировать возможность его использования для извлечения *n*-АСК из водных растворов, а также разделения ароматических аминокислот.

Экспериментальные изотермы равновесной сорбции *n*-АБК и *n*-АСК на β-ЦД-содержащем кремнеземе были проанализированы с использованием моделей адсорбции Ленгмюра, Фрейндлиха и Редлиха-Петерсона (табл. 7).

Табл. 7. Математические модели равновесной адсорбции

| Модель равновесной адсорбции | Уравнение изотермы адсорбции | Линеаризованная форма уравнения |
|------------------------------|---------------------------------------|---|
| Ленгмюр | $a_p = \frac{K_L C_p}{1 + a_m C_p}$ | $\frac{C_p}{a_p} = \frac{1}{K_L a_m} + \frac{C_p}{a_m}$ |
| Фрейндлих | $a_p = K_F C_p^{1/n}$ | $\lg a_p = \lg K_F + \frac{1}{n} \lg C_p$ |
| Редлих-Петерсон | $a_p = \frac{K_R C_p}{1 + a_R C_p^B}$ | $\lg(K_R \frac{C_p}{a_p} - 1) = \lg a_R + B \lg C_p$ |

Параметры изотерм адсорбции рассчитаны из линейных зависимостей экспериментальных значений, построенных в координатах уравнений Фрейндлиха и Ленгмюра. В случае уравнения Редлиха-Петерсона параметры изотермы адсорбции не могут быть найдены по наклону прямой и отрезку, отсекаемому на координатной оси, так как имеется три неизвестные величины K_R , a_R и B , поэтому константы были определены путем минимизации ошибки между экспериментальными и рассчитанными по уравнению Редлиха-Петерсона значениями a_p с помощью надстройки "поиск решения" в Microsoft Excel [40] (табл. 8, 9).

Табл. 8. Параметры адсорбции ароматических аминокислот для β-ЦД-содержащего кремнезема, рассчитанные по уравнениям Ленгмюра и Фрейндлиха

| Аминокислота | pH | по Ленгмюру | | | по Фрейндлиху | | |
|---------------|------|----------------------------|----------------------------|-------|--------------------------------------|------|-------|
| | | K_L , л·мг ⁻¹ | a_m , мг·г ⁻¹ | R^2 | $K_F \cdot 10^3$, л·г ⁻¹ | n | R^2 |
| <i>n</i> -АБК | 3,60 | – | – | <0,25 | 23 | 1,01 | 0,992 |
| | 6,86 | 0,0055 | 0,7 | 0,812 | 8 | 1,33 | 0,936 |
| <i>n</i> -АСК | 6,86 | 0,0012 | 3,2 | 0,859 | 0,5 | 0,68 | 0,993 |

Крайне низкий коэффициент корреляции для модели адсорбции Ленгмюра свидетельствует о ее непригодности для описания полученных экспериментальных данных как мономолекулярной адсорбции на энергетически однородных центрах. Модель Фрейндлиха удовлетворительно описывает процессы сорбции *n*-АБК и *n*-АСК β-ЦД-содержащим кремнеземом во всем изученном интервале концентраций; большие коэффициенты корреляции указывают на хорошее математическое соответствие. Более того, значения параметра B в уравнении Редлиха-Петерсона близки к нулю (табл. 9).

Табл. 9. Параметры адсорбции *n*-АБК и *n*-АСК для β-ЦД-содержащего кремнезема, рассчитанные по уравнению Редлиха-Петерсона

| Амино-кислота | pH | $K_R, \text{л} \cdot \text{г}^{-1}$ | $a_R, \text{л} \cdot \text{мг}^{-1}$ | B | R^2 |
|---------------|------|-------------------------------------|--------------------------------------|------|-------|
| <i>n</i> -АБК | 3,60 | 0,14 | 2,92 | 0,13 | 0,976 |
| | 6,86 | 0,062 | 3,57 | 0,41 | 0,936 |
| <i>n</i> -АСК | 6,86 | 0,046 | 5,02 | 0 | 0,905 |

Это является дополнительным доказательством в пользу механизма адсорбции по Фрейндлиху: модель адсорбции Фрейндлиха в значительной мере учитывает неоднородность реальной поверхности кремнезема III, содержащего несколько типов энергетически неравноценных активных центров (схема 4). Из таблицы 8 видно, что наиболее высокие значения константы Фрейндлиха K_F получены для сорбции молекулярной формы *n*-АБК на поверхности β-ЦД-содержащего кремнезема (при pH = 3,60). Иными словами, наиболее стабильные комплексы на поверхности кремнезема III образуются с незаряженными молекулами *n*-аминобензойной кислоты. Этот результат коррелирует с экспериментальными данными, полученными нами при изучении комплексообразования "β-ЦД – *n*-АБК" и "β-ЦД – *n*-АСК" в фосфатных буферных растворах [36, 37].

Данные ИК спектрального анализа также свидетельствуют о сорбции ароматических аминокислот на β-ЦД-содержащем кремнеземе. После сорбции *n*-АБК и *n*-АСК наблюдается значительное увеличение интенсивности полос поглощения с максимумами при 1640 и 1630 см^{-1} соответственно (рис. 1, спектры 5–7). Эти полосы имеют сложный характер: основной вклад в их интенсивность вносят деформационные колебания связи О–Н адсорбированной воды и валентные колебания связи С=О ионизированных карбоксильных групп ароматических аминокислот. Вклад деформационных колебаний связи N–H в NH_3^+ группах (полосы поглощения в области 1520–1480 см^{-1}) поверхности кремнезема III незначителен. В ИК спектрах кремнезема III после сорбции ароматических аминокислот появляется также полоса поглощения с максимумом при 1448 см^{-1} , принадлежащая валентным колебаниям связи С=C в бензольном кольце (рис. 1, спектры 6, 7). Кроме того, наблюдаются заметные изменения в положении полосы деформационных колебаний связи N–H

первичных аминогрупп аминокислот: она смещается в низкочастотную область и регистрируется при 1565 см^{-1} (вместо 1625 см^{-1}) для *n*-АБК и 1616 см^{-1} для *n*-АСК [36, 37]. Это вызвано формированием супрамолекулярных структур на поверхности кремнезема III и возникновением водородных связей между аминогруппами аминокислот и гидроксильными группами макромолекул β-ЦД, закрепленных на поверхности кремнезема.

ВЫВОДЫ

Предложен метод химической иммобилизации β-циклодекстрина в мягких условиях на поверхности высокодисперсного кремнезема.

Изучена сорбция *n*-аминобензойной и *n*-аминосалициловой кислот на кремнеземных сорбентах в зависимости от длительности контакта, равновесной концентрации и pH раствора. С использованием стандартных математических моделей рассчитаны основные параметры адсорбции ароматических аминокислот. Установлено, что сорбция *n*-аминобензойной и *n*-аминосалициловой кислот на поверхности β-циклодекстриносодержащего кремнезема описывается кинетической моделью псевдоторого порядка и уравнением изотермы адсорбции Фрейндлиха. Молекулярная (незаряженная) форма *n*-аминобензойной кислоты образует наиболее стабильные поверхностные комплексы включения.

Продемонстрировано влияние полярности анионных форм ароматических аминокислот на комплексообразование с закрепленным на поверхности кремнезема β-циклодекстрином.

ЛИТЕРАТУРА

1. *Lehn J.M.* Cryptates: inclusion complexes of macropolycyclic receptor molecules // *Pure Appl. Chem.* – 1978. – V. 50, N 9–10. – P. 871–892.
2. *Pedersen C.J.* Cyclic polyethers and their complexes with metal salts // *J. Amer. Chem. Soc.* – 1967. – V. 89, N 10. – P. 2495–2496.
3. *Hegeson R.C., Timko J.M., Cram D.J.* Structural requirements for cyclic ethers to complex and lipophilize metal cations or alpha-amino acids // *J. Amer. Chem. Soc.* – 1973. – V. 95, N 9. – P. 3023–3025.
4. *Lehn J.-M.* *Supramolecular Chemistry: Concepts and Perspectives.* – Weinheim: VCH, 1995. – 271 p.
5. *Steed J.W., Atwood J.L.* *Supramolecular Chemistry.* – New York: Wiley, 2009. – 990 p.

6. *Szejtli J.* Introduction and general overview of cyclodextrin chemistry // *Chem. Rev.* – 1998. – V. 98. – P. 1743–1753.
7. *Szejtli J.* Past, present, and future of cyclodextrin research // *Pure Appl. Chem.* – 2004. – V. 76, N 10. – P. 1825–1845.
8. *Palaniappan Al., Li X., Tay F.E.H. et al.* Cyclodextrin functionalized mesoporous silica films on quartz crystal microbalance for enhanced gas sensing // *Sens. Actuators. B.* – 2006. – V. 119 – P. 220–226.
9. *Allabashi R., Arkas M., Hormann G., Tsiourvas D.* Removal of some organic pollutants in water employing ceramic membranes impregnated with cross-linked silylated dendritic and cyclodextrin polymers // *Water Research.* – 2007. – V. 41. – P. 476–486.
10. *Qin L., He X.-W., Li W.-Y., Zhang Y.-K.* Molecularly imprinted polymer prepared with bonded β -cyclodextrin and acrylamide on functionalized silica gel for selective recognition of tryptophan in aqueous media // *J. Chromatogr. A.* – 2008. – V. 1187. – P. 94–102.
11. *Liang M., Qi M., Zhang C., Fu R.* Peralkylated- β -cyclodextrin used as gas chromatographic stationary phase prepared by sol-gel technology for capillary column // *J. Chromatogr. A.* – 2004. – V. 1059. – P. 111–119.
12. *Esmaeili M.A., Yazdanparast R.* Beta-cyclodextrin-bonded silica assists alkaline phosphatase and carbonic anhydrase refolding in a solid phase assisted refolding approach // *Process Biochemistry.* – 2010. – V. 45. – P. 239–246.
13. *Ng S.-C., Ong T.-T., Fu P., Ching C.-B.* Enantiomer separation of flavour and fragrance compounds by liquid chromatography using novel urea-covalent bonded methylated β -cyclodextrins on silica // *J. Chromatogr. A.* – 2002. – V. 968, N 1–2. – P. 31–40.
14. *Chen L., Zhang L.-F., Ching C.-B., Ng S.-C.* Synthesis and chromatographic properties of a novel chiral stationary phase derived from heptakis (6-azido-6-deoxy-2,3-di-O-phenylcarbamoylated)- β -cyclodextrin immobilized onto amino-functionalized silica gel via multiple urea linkages // *J. Chromatogr. A.* – 2002. – V. 950. – P. 65–74.
15. *Fujimura K., Ueda T., Ando T.* Retention behavior of some aromatic compounds on chemically bonded cyclodextrin silica stationary phase in liquid chromatography // *Anal. Chem.* – 1983. – V. 55, N 3. – P. 446–450.
16. *Kawaguchi Y., Tanaka M., Nakae M. et al.* Chemically bonded cyclodextrin stationary phases for liquid chromatographic separation of aromatic compounds // *Anal. Chem.* – 1983. – V. 55, N 12. – P. 1852–1857.
17. *Lai X., Ng S.-C.* Mono(6^A-N-allylamino-6^A-deoxy)perphenylcarbamoylated β -cyclodextrin: synthesis and application as a chiral stationary phase for HPLC // *Tetrahedron Lett.* – 2003. – V. 44. – P. 2657–2660.
18. *Jia H., Yang G., Li Z. et al.* Micellar liquid chromatography with dodecyl dimethyl betaine as an in vitro method for prediction of protein-drug binding // *J. Chromatogr.* – 2007. – V. 1143. – P. 88–97.
19. *Kibbey C.E., Meyerhoff M.E.* Preparation and characterization of covalently bound tetraphenylporphyrin-silica gel stationary phases for reversed-phase and anion-exchange chromatography // *Anal. Chem.* – 1993. – V. 65. – P. 2189–2196.
20. *Pyrzynska K., Wierzbicki T.* Sorption behaviour of vanadium on silica gel modified with tetrakis(4-carboxyphenyl)porphyrin // *Anal. Sci.* – 2005. – V. 21. – P. 951–954.
21. *Ferreira L., Ramos M.A., Dordick J.S., Gil M.H.* Influence of different silica derivatives in the immobilization and stabilization of a *Bacillus licheniformis* protease (Subtilisin Carlsberg) // *J. Mol. Catalys. B.* – 2003. – V. 21. – P. 189–199.
22. *Miller M.D., Baker G.L., Bruening M.L.* Polymer-brush stationary phases for open-tubular capillary electrochromatography // *J. Chromatogr.* – 2004. – V. 1044. – P. 323–330.
23. *Lakhiari H., Muller D.* Purification of IgG and insulin on supports grafted by sialic acid developing "thiophilic-like" interactions // *J. Chromatogr.* – 2005. – V. 818. – P. 53–59.
24. *Liebert T.F., Heinze T.* Tailored cellulose esters: synthesis and structure determination // *Biomacromolecules.* – 2005. – V. 6, N 1. – P. 333–340.
25. *Scholar E.M., Pratt W.B.* *The Antimicrobial Drugs.* – Oxford: University Press, 2000. – 607 p.
26. *Zarafonitis C.J., Dabich L., Skovronski J.J. et al.* Retrospective studies in scleroderma: skin response to potassium para-aminobenzoate therapy // *Clin. Exp. Rheumatol.* – 1988. – V. 6. – P. 261–268.
27. *Sieve B.F.* Clinical achromotrichia. // *Science.* – 1941. – V. 94. – P. 257–258.
28. *Serpone N., Salinaro A., Emeline A.V. et al.* An in vitro systematic spectroscopic examination of the photostabilities of a random set of commercial sunscreen lotions and their chemical UVB/UVA active agents // *Photochem. Photobiol. Sci.* – 2002. – V. 1. – P. 970–981.
29. *Handbook of anti-tuberculosis agents. Para-aminosalicylic acid* // *Tuberculosis.* – 2008. – V. 88. – P. 137–138.
30. *Eastlake C., Barach A.L.* Use of para-aminosalicylic acid in chronic pulmonary tuberculosis // *Chest.* – 1949. – V. 16. – P. 1–14.

31. Rengarajan J., Sasseti C.M., Naroditskaya V. et al. The folate pathway is a target for resistance to the drug para-aminosalicylic acid (PAS) in mycobacteria // *Mol. Microbiol.* – 2004. – V. 53, N 1. – P. 275–282.
32. Varvarin A.M., Belyakova L.A. Method for determining the concentration of isolated silanol groups on silica surface with dimethylchlorosilane // *Russ. J. Appl. Chem.* – 2003 – V. 76, N 2 – P. 203–206.
33. Belyakova L.A., Vlasova N.N., Golovkova L.P. et al. 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.
34. Коренман И.М. Фотометрический анализ. Методы определения органических соединений – Москва: Химия, 1970. – 343 с.
35. Nakanishi K. Infrared absorption spectroscopy – practical. – San Francisco: Holden-Day, 1962. – 233 p.
36. Roik N.V., Belyakova L.A. Thermodynamic, IR spectral and X-ray diffraction studies of the "β-cyclodextrin–para-aminobenzoic acid" inclusion complex // *J. Incl. Phenom. Macroc. Chem.* – 2011. – V. 69, N 3–4. – P. 315–319.
37. Roik N.V., Belyakova L.A. Cyclodextrin-based drug stabilizing system // *J. Mol. Struct.* – 2011. – V. 987. – P. 225–231.
38. Cramer F. Emil Fischer's lock-and-key hypothesis after 100 years – Towards a supracellular chemistry // *The Lock-and-Key Principle* / Ed. J.-P. Behr. – V 1. – Chichester: Wiley&Sons, 1994. – P. 1–23.
39. Challa R., Ahuja A., Ali J., Khar R.K. Cyclodextrins in drug delivery: an updated review // *AAPS PharmSciTech.* – 2005. – V. 6, N 2. – P. E329–E357.
40. Ng J.C.Y., Cheung W.H., McKay G. Equilibrium studies of the sorption of Cu(II) ions onto chitosan // *J. Colloid Interface Sci.* – 2002. – V. 255. – P. 64–74.

Поступила 26.05.2011, принята 06.06.2011

Сорбція ароматичних амінокислот на дисперсному кремнеземі з хімічно закріпленим β-циклодекстрином

Н.В. Роїк, Л.О. Белякова, М.О. Дзязько

*Інститут хімії поверхні ім. О.О. Чуйка Національної академії наук України
вул. Генерала Наумова 17, Київ 03164, Україна, roik_nadya@ukr.net*

Синтезовано β-циклодекстринвмісний кремнезем в м'яких умовах з використанням 1,1'-карбонілдіімідазолу як зшиваючого агента. Вивчено сорбцію п-амінобензойної і п-аміносалицилової кислот на кремнеземах з різною будовою поверхневого шару в залежності від тривалості контакту, рівноважної концентрації та рН розчину. Показано, що хімічна іммобілізація β-циклодекстрину на поверхні кремнезему приводить до збільшення параметрів адсорбції ароматичних амінокислот завдяки утворенню поверхневих комплексів включення між прищепленими молекулами олігосахариду та амінокислотами. Експериментальні результати проаналізовано за допомогою математичних моделей для кінетики адсорбції і рівноважної сорбції на поверхні твердих тіл.

Sorption of Aromatic Amino Acids on Dispersed Silica with Chemically Grafted β-Cyclodextrin

N.V. Roik, L.A. Belyakova, M.A. Dzyazko

*Chuiko Institute of Surface Chemistry of National Academy of Sciences of Ukraine
17 General Naumov Street, Kyiv 03164, Ukraine, roik_nadya@ukr.net*

Synthesis of β-cyclodextrin-containing silica has been carried out under mild conditions using 1,1'-carbonyldiimidazole as a coupling agent. Sorption of p-aminobenzoic and p-aminosalicylic acids on silicas with various structure of surface layer has been studied in relation to duration of contact, equilibrium concentration, and solution pH. It was shown that chemical immobilization of β-cyclodextrin onto silica surface improves adsorption parameters for aromatic amino acids due to the formation of surface inclusion complexes between grafted oligosaccharide molecules and amino acids. Experimental results were analyzed with mathematical models for adsorption kinetics and equilibrium sorption on the solid surfaces.