

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНІ СТАТТІ

УДК 577.113.4:546.28:546.212

ГИДРАТНЫЕ СВОЙСТВА КОМПОЗИТНОГО МАТЕРИАЛА НА ОСНОВЕ ВЫСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМА И ДНК

В. В. Туров¹
В. Н. Барвинченко¹
Т. В. Крупская¹
В. М. Гунько¹
В. Ф. Чехун²

¹Институт химии поверхности им. А. А. Чуйко
НАН Украины, Киев

²Институт экспериментальной патологии, онкологии
и радиобиологии им. Р. Е. Кавецкого
НАН Украины, Киев

E-mail: v_turov@ukr.net

Кремнеземы широко используют в биомедицине не только в качестве сопутствующих веществ, придающих лекарственным формам требуемые физико-химические свойства, но и как самостоятельное лекарственное средство с выраженным детоксицирующим эффектом, хорошо зарекомендовавшее себя при лечении пищевых отравлений, бактериальных заражений и раневых инфекций.

Создана наноконструктивная система на основе высокодисперсного кремнезема, модифицированного адсорбированной ДНК. Свойства композита изучены методами ЯМР-спектроскопии, термогравиметрии, ИК-спектроскопии. Проведены биометрические исследования композита SiO₂-ДНК на суспензию клеток *Saccharomyces cerevisiae*. Показано, что наноконструктив обладает достаточной биоактивностью, поскольку может существенно ускорять процессы жизнедеятельности хлебопекарских дрожжей. Детально изучены гидратация композита SiO₂-ДНК и влияние на нее среды органических растворителей. Обнаружено несколько форм межфазной воды, в том числе и слабоассоциированной, которая практически не образует водородных связей с соседними молекулами. Показано, что при варьировании температуры или введении в систему органических веществ происходят взаимопревращения между разными формами межфазной воды. Высказано предположение, что именно слабоассоциированная форма воды может быть ответственна за биосовместимость с клетками.

Ключевые слова: наноконструктив кремнезем-ДНК, гидратация, сильно- и слабоассоциированная вода, суспензия клеток *Saccharomyces cerevisiae*.

Кремнеземы широко используют в биомедицинских целях не только в качестве сопутствующих веществ, придающих лекарственным формам требуемые физико-химические свойства, но и как самостоятельное лекарственное средство с выраженным детоксицирующим эффектом, хорошо зарекомендовавшее себя при лечении пищевых отравлений, бактериальных заражений и раневых инфекций [1–3]. В последние годы разрабатываются технологии использования пористых кремнеземов как средств направленной доставки лекарственных препаратов, предполагающие создание в плочных образцах кремнезема наноразмерных каналов, в которые может быть внедрен лекарственный препарат [4–6]. В дальнейшем благодаря диффузионным процессам или физическому воздействию (электрофо-

рез) препарат перемещается в контактирующую с пленкой ткань или биологическую жидкость. Для той же цели можно использовать также сильно гидратированные полимерные и биополимерные молекулы [7]. Весьма перспективными материалами для направленной доставки фармпрепаратов могут стать композиты, созданные на основе нанокремнезема, модифицированного адсорбированной ДНК. Хотя сама ДНК плохо растворяется в воде, ее молекулы легко формируют гелевую (или микрогелевую) структуру, связывающую большое количество воды. Адсорбционное закрепление полимера на поверхности кремнезема может осуществляться механохимической активацией смеси твердых частиц полимера и SiO₂ в присутствии некоторого количества воды или органического растворителя [8, 9]. При

этом высокая механическая нагрузка позволяет равномерно распределять полимер по поверхности кремнеземной матрицы, создавая большую площадь контакта поверхности субстрата с внешней средой, а его многоцентровое связывание с поверхностью обеспечивает стабильность композита в течение длительного времени. Фармакологические свойства композита будут во многом определяться строением водно-органических смесей на его поверхности.

Ранее, при определении состояния воды в порошках твердой ДНК методом низкотемпературной ^1H ЯМР-спектроскопии [10–12], было показано, что вода, адсорбированная молекулами ДНК, находится в кластерном состоянии, причем одновременно могут наблюдаться несколько типов кластеров, отвечающих воде с разной ассоциированностью (принимающей участие в формировании разных типов водородно-связанных комплексов). Состояние воды существенно изменяется с варьированием температуры и в присутствии органической среды. При этом основными типами межфазной воды в ДНК следует считать ее слабоассоциированные формы (WAW, молекулы которой либо вообще не образуют водородных связей, либо участвуют в формировании малых кластеров, содержащих 2–4 молекулы [10]), сильноассоциированную воду (SAW, каждая молекула которой участвует в формировании не менее двух водородных связей), и воду, взаимодействующую с электронодонорными центрами молекул ДНК или органической среды (ASW). Целью настоящей работы было исследование гидратных свойств нанокompозита, созданного на основе высокодисперсного кремнезема и ДНК в среде органических растворителей. Предполагалось, что такие композитные материалы могут быть использованы для селективного связывания биологически активных веществ в разбавленных растворах и биосредах, а также в качестве носителя лекарственных препаратов.

Материалы и методы

В качестве минеральной составляющей нанокompозита был выбран высокодисперсный кремнезем (ВДК, Аэросил А-300, с удельной поверхностью $300 \text{ м}^2/\text{г}$, Калушского опытно-экспериментального завода Института химии поверхности им. А. А. Чуйко НАН Украины). Для приготовления нанокompозита препарат лиофилизированной ДНК, выделенной из молок лососевых рыб (Sigma), перемешивали с порошком ВДК, добавляя

фиксированное количество воды, и подвергали механохимической активации в течение 20 мин. После этого полученный композит сушили при $60 \text{ }^\circ\text{C}$ в течение 48 ч. На рис. 1 приведены микрофотографии порошка и водной суспензии нанокompозита, где видно, что его частицы представляют собой агломераты микронного размера.

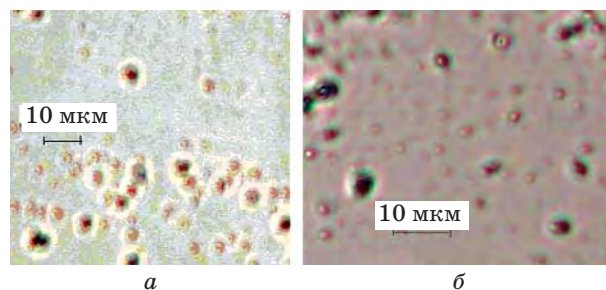


Рис. 1. Микрофотографии порошка нанокompозита SiO_2 -ДНК (а) и его водной суспензии (б)

В качестве органической среды использовали дейтерированные растворители — CDCl_3 , C_6D_6 , CD_3CN , а также смеси CDCl_3 и C_6D_6 с дейтерированными формами ацетонитрила, ДМСО и пиридина. Дейтерированные аналоги растворителей были выбраны с целью предотвращения появления в спектрах ^1H ЯМР интенсивных сигналов жидких органических веществ.

Спектры ЯМР снимали на ЯМР-спектрометре высокого разрешения Varian Mercury 400 с рабочей частотой 400 МГц. Температуру регулировали с точностью $\pm 1 \text{ K}$, используя термopриставку Bruker VT-1000. Для предотвращения переохлаждения суспензий спектры ^1H ЯМР незамерзающей воды записывали при нагревании суспензий, предварительно охлажденных до температуры 210 К.

Способ определения характеристик межфазных слоев воды с помощью ^1H ЯМР-спектроскопии подробно изложен в [10–12]. Он базируется на влиянии межфазной границы на температуру фазового перехода вода–лед. Благодаря адсорбционным взаимодействиям температура замерзания воды на границах раздела понижена. Свободная энергия льда с понижением температуры изменяется по линейному закону [13]:

$$\Delta G = -0,036(273 - T). \quad (1)$$

Площадь, ограниченная кривой $\Delta G(C_{uw})$ [$C_{uw}(T)$ — температурная зависимость концентрации незамерзшей воды], определяет величину межфазной энергии (γ_s), которая равна модулю суммарного понижения свободной энергии воды, обусловленного присутствием границы раздела фаз:

$$\gamma_s = -K \int_0^{C_{uw}^{\max}} \Delta G(C_{uw}) dC_{uw}, \quad (2)$$

где C_{uw}^{\max} — общее количество незамерзающей воды при $T = 273$ °К.

На зависимостях $\Delta G(C_{uw})$ обычно могут быть выделены участки, относящиеся к слабосвязанной (WBW) и сильносвязанной (SBW) воде. При этом под WBW понимают ту часть незамерзающей воды, свободная энергия которой лишь немного понижена ($-\Delta G \leq 0,5-0,8$ кДж/моль) в результате адсорбционных взаимодействий, и замерзает она при $T > 250-260$ К. SBW ($-\Delta G > 0,8$ кДж/моль) может не замерзать даже при сильном охлаждении суспензии [10, 12]. Количественные (C_{uw}^s и C_{uw}^w для SBW и WBW, соответственно) и энергетические (ΔG^s и ΔG^w) характеристики слоев связанной воды могут быть получены экстраполяцией соответствующих участков зависимостей к осям абсцисс и ординат.

Процесс замерзания воды во внутриклеточных полостях или карманах в макромолекулах может быть описан уравнением Гиббса–Томсона [10, 14]:

$$\Delta T_m = T_m(R) - T_{m,\infty} = \frac{2\sigma_{sl}T_{m,\infty}}{\Delta H_f \rho R} = \frac{k}{R}, \quad (3)$$

где $T_m(R)$ — температура плавления льда, локализованного в порах (пустотах) радиусом R , $T_{m,\infty}$ — температура плавления объемного льда, ρ — плотность твердой фазы, σ_{sl} — энергия взаимодействия твердого тела с жидкостью (посредством водородных связей), ΔH_f — объемная энтальпия плавления, k — константа. Это уравнение может быть использовано для расчета распределений по размерам пор (заполненных связанной водой пустот) на основе зависимостей $C_{uw}(T)$. Зависимость $\Delta G(C_{uw})$ можно преобразовать в распределение незамерзающей воды по изменением свободной энергии Гиббса $\Delta C_{uw}(\Delta G)$, где ΔC_{uw} — инкрементальная функция температуры.

Поскольку время поперечной релаксации протонов в твердых телах, к которым относятся биополимерные молекулы ДНК, лед и ВДК на несколько порядков меньше, чем для жидкостей или воды, физически адсорбированной на нанокompозите [15], в спектрах ^1H ЯМР могут регистрироваться исключительно сигналы протонов молекул адсорбированной воды.

Для исследования биоактивности полученного нанокompозита использовали сухие хлебопекарские дрожжи *Saccharomyces*

cerevisiae (производства ЗАО «Энзим», Украина), которые культивировали в 17%-м растворе сахарозы при 25 °С. Активность суспензии дрожжевых клеток определяли по кинетике выделения углекислого газа в процессе их брожения при фиксированном содержании питательных веществ [16]. Выделившийся углекислый газ определяли количественно. В начале опыта колбу со средой, дрожжами и затвором взвешивали на технических весах с точностью до 0,01 г. Далее реакцию колбу взвешивали периодически, что позволяло определять массу выделившегося углекислого газа за определенный промежуток времени. Достоверность полученных результатов обеспечивалась повторением измерений и статистическим вычислением среднего значения.

Результаты и обсуждение

На рис. 2 приведены результаты термogravиметрических исследований нанокompозита ДНК–SiO₂, снятые на дериватографе марки Q-1500D (Венгрия) в воздушной среде при скорости нагрева 10 градус/мин. Показаны (а) кривые относительного изменения массы от температуры (ТГ), производная от изменения массы по температуре, dm/dT (ДТГ) и характеризующая поглощение или выделение тепла исследуемым образцом (ДТА). При этом рост кривой ДТА свидетельствует об эндо-, а уменьшение — об экзотермических эффектах, происходящих в процессе термолиза. Показаны (б) зависимость этих величин от времени нагрева, потеря массы относительно массы исходной навески (в). На кривой потери массы (ТГ) регистрируется перегиб в области 120 °С, который отвечает удалению физически адсорбированной воды. При этом потеря массы составляет 3% мас. Полная потеря массы образцом нанокompозита при нагреве его до 1 000 °С составляет 8,1% мас. Следовательно, количество остаточной воды в образце было 3% мас, а содержание полимерной составляющей в композите — 6,1% мас.

При создании минерально-полимерных композитов с помощью механохимической активации возможна адсорбция полимера на поверхности, которая происходит с участием активных центров поверхности кремнезема, либо образование механической смеси, характеризующейся присутствием в ней слабо связанных между собой частиц кремнезема и ДНК. С целью определения взаимодействия компонентов в композитной системе

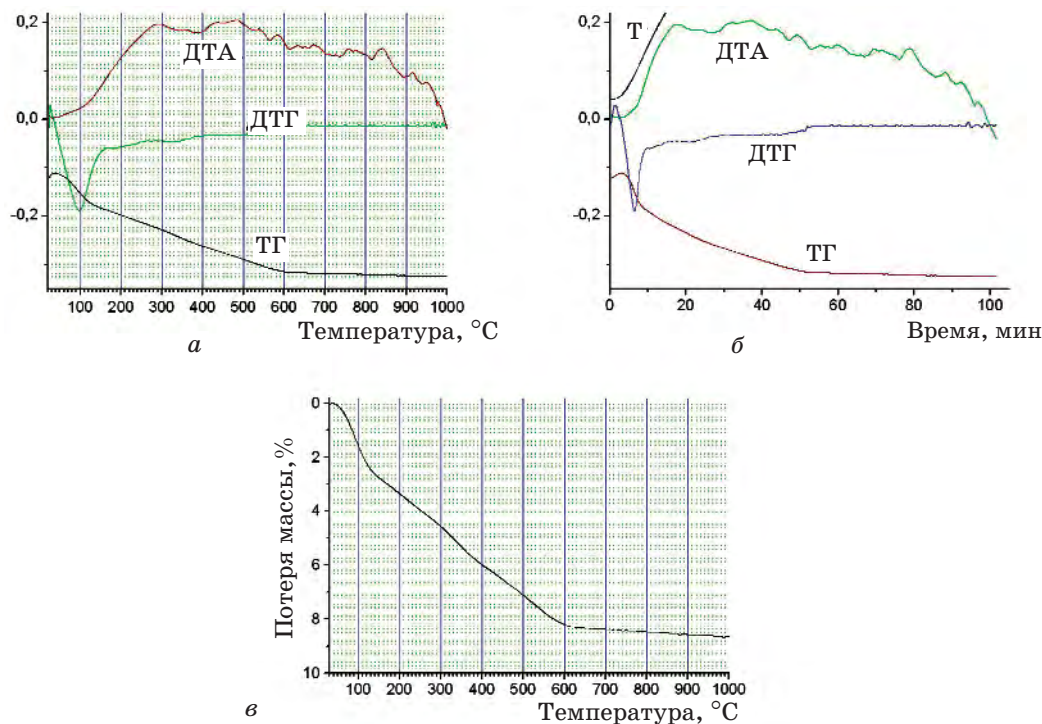


Рис. 2. Результаты термогравиметрических исследований нанокompозита, приготовленного на основе ВДК и ДНК:

- а — кривые относительного изменения массы от температуры (ТГ), dm/dT (ДТГ) и направления теплового потока (ДТА);
- б — их зависимость от времени нагрева;
- в — кривая потери массы относительно исходной навески

были проведены ИК-спектроскопические исследования (однолучевой Фурье-спектрометр фирмы Thermo Nicolet Nexus FT-IR, Германия, таблетки в виде пресованных порошков с КВг при соотношении компонентов 1 : 5). Их основой служили измерения изменения интенсивности полосы остаточных гидроксильных групп кремнезема ($\nu = 3750 \text{ см}^{-1}$) до и после механохимической активации.

На рис. 3 представлены результаты исследования исходного кремнезема, порошка ДНК и нанокompозита SiO_2 -ДНК, содержащего 6% мас ДНК. Подробное отнесение полос в ИК-спектрах ДНК приведено в [17]. Поглощение в области частот, отвечающее $3800\text{--}2200 \text{ см}^{-1}$, относится преимущественно к поглощению молекул свободной и связанной воды. На его фоне видны слабоинтенсивные полосы, обусловленные CH_3 , CH_2 , CH , NH_2 и NH - группами дезоксирибозы и оснований. Наиболее интенсивные из них 3350 , 2210 и 2280 см^{-1} относятся к NH_2 и NH - группам оснований. В области спектра, отвечающей $1750\text{--}1250 \text{ см}^{-1}$, находится большая группа интенсивных полос валентных колебаний сопряженных связей азотистых гетероциклов, экзоциклических $\text{C}\text{--}\text{O}$ - связей

и деформационных колебаний NH_2 и NH - групп оснований. В области $1250\text{--}1090 \text{ см}^{-1}$ наблюдается выраженная группа полос колебаний сахарофосфатного остова. Две наиболее интенсивные из них — 1230 см^{-1} и 1090 см^{-1} — могут быть отнесены к антисимметричному и симметричному валентным колебаниям $\text{O}_2\text{P}\text{--}\text{O}_3$.

Сигнал силанольных групп, не участвующих в образовании водородных связей (с молекулами воды или другими активными центрами), наблюдается в виде узкой характеристической полосы с $\nu = 3750 \text{ см}^{-1}$ [18, 19]. Интенсивность этой полосы в нанокompозите существенно меньше, чем в исходном кремнеземе. Если учесть, что полимерная составляющая в композите составляет всего 6,1 % мас, в то время как для полного покрытия полимерами разных типов поверхности нанокремнезема А-300 обычно требуется на порядок больше полимера [10], можно сделать вывод, что большая часть присутствующей в образце ДНК распределяется по поверхности кремнезема таким образом, что ее электронодонорные группы формируют водородно-связанные комплексы с силанольными группами. Это обеспечивает высокую энергию связывания биополимера с поверхностью и формирование стабильного композита SiO_2 -ДНК.

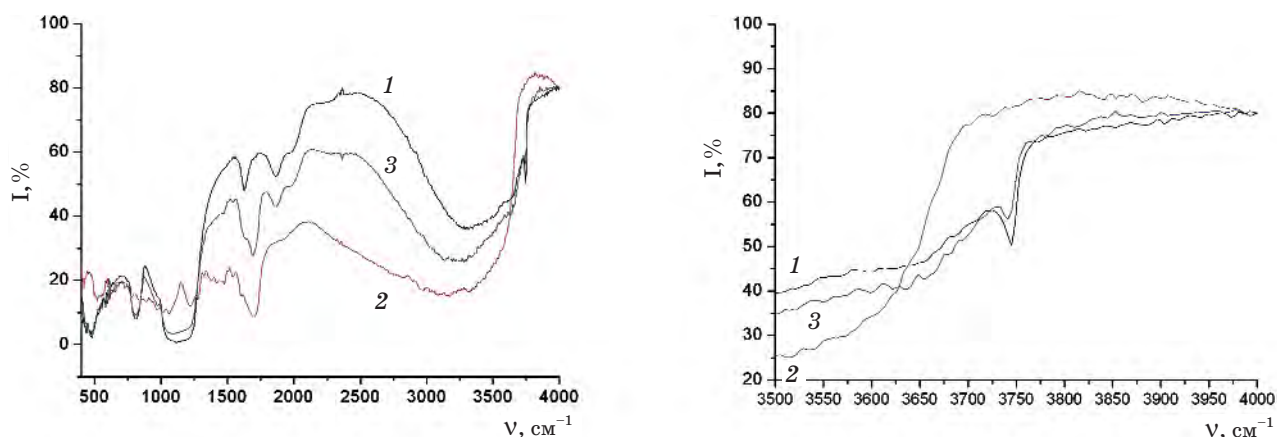


Рис. 3. ИК-спектры исходного кремнезема (1), порошка ДНК (2) и нанокompозита SiO₂-ДНК (3), снятые в таблетках с KBr при соотношении компонентов 1:5

На рис. 4 приведены снятые при разных температурах спектры ¹H ЯМР воды, связанной синтезированным нанокompозитом, содержащим 50% мас (а) и 3% мас воды в среде дейтерохлороформа (б), дейтеробензола (в) и дейтероацетонитрила (г). В 5%-й суспензии основной сигнал имеет химический сдвиг 4,5–5 м. д., что совпадает со значением химического сдвига жидкой воды и отвечает сильноассоциированной воде, в которой каждая молекула участвует в формировании 2,5–3,0 водородных связей [10]. При большом усилении в спектрах становятся наблюдаемыми слабоинтенсивные сигналы в области 1,2–1,7 м. д., которые могут быть связаны с наличием небольшого количества слабоассоциированной воды (на каждую ее молекулу приходится менее одной водородной связи), и в области 7 м. д., вероятно, обусловленной молекулами воды, взаимодействующей с сильными электронодонорными центрами, способными к формированию комплексов с перенесенным протоном. Точное измерение интенсивности этих сигналов на фоне интенсивного сигнала SAW затруднительно. Качественная оценка показывает, что их интенсивность не превышает 0,2% от интенсивности сигнала SAW.

Для нанокompозита, насыщенного водой при 50 °С (C_{H₂O} = 3% мас), помещенного в среду слабополярного органического растворителя — хлороформа, в спектрах ¹H ЯМР отдельно регистрируются сигналы сильно- и слабоассоциированной воды. С понижением температуры их интенсивность уменьшается за счет вымерзания воды. Причем интенсивность сигнала SAW ослабевает значительно сильнее, чем сигнала WAW (рис. 4), т. е. свободная энергия WAW понижена адсорбционными взаимодействиями

с поверхностью композита в большей степени, чем SAW. В спектрах регистрируется также сигнал непродейтерированной составляющей хлороформа с химическим сдвигом δ_H = 7,2 м. д.

В среде бензола при 280 К (рис. 4, в), количество WAW существенно повышается (примерно вдвое) по сравнению с ее количеством в среде CDCl₃. Однако с понижением температуры концентрация слабоассоциированной воды быстро снижается (рис. 5). Одновременно уменьшается и относительно узкий сигнал непродейтерированного жидкого бензола (δ_H = 7,2 м. д.), который замерзает (T_{пл} = 280 К) и практически перестает регистрироваться в спектрах. Твердый бензол находится в состоянии молекулярного кристалла. Его сигнал может наблюдаться в виде очень широкого сигнала с химическим сдвигом δ_H = 7,2 м. д. Таким образом, возможность существования воды в слабоассоциированном состоянии связана с наличием жидкой фазы неполярного органического растворителя (рис. 4, в). На рис. 4, в в спектрах присутствует также сигнал тетраметилсилана (ТМС), добавляемого во многие дейтерорастворители в качестве стандарта химического сдвига (δ_H = 0 м. д.).

При замене бензола ацетонитрилом (полярность которого значительно выше) вид спектров воды, связанной с поверхностью композита, существенно изменяется. Концентрация слабоассоциированной воды становится намного большей, чем сильноассоциированной, вплоть до температуры замерзания жидкого ацетонитрила (233 К). При более низкой температуре, как и в случае бензола, интенсивность сигнала WAW быстро уменьшается с понижением температуры, и он перестает регистрироваться

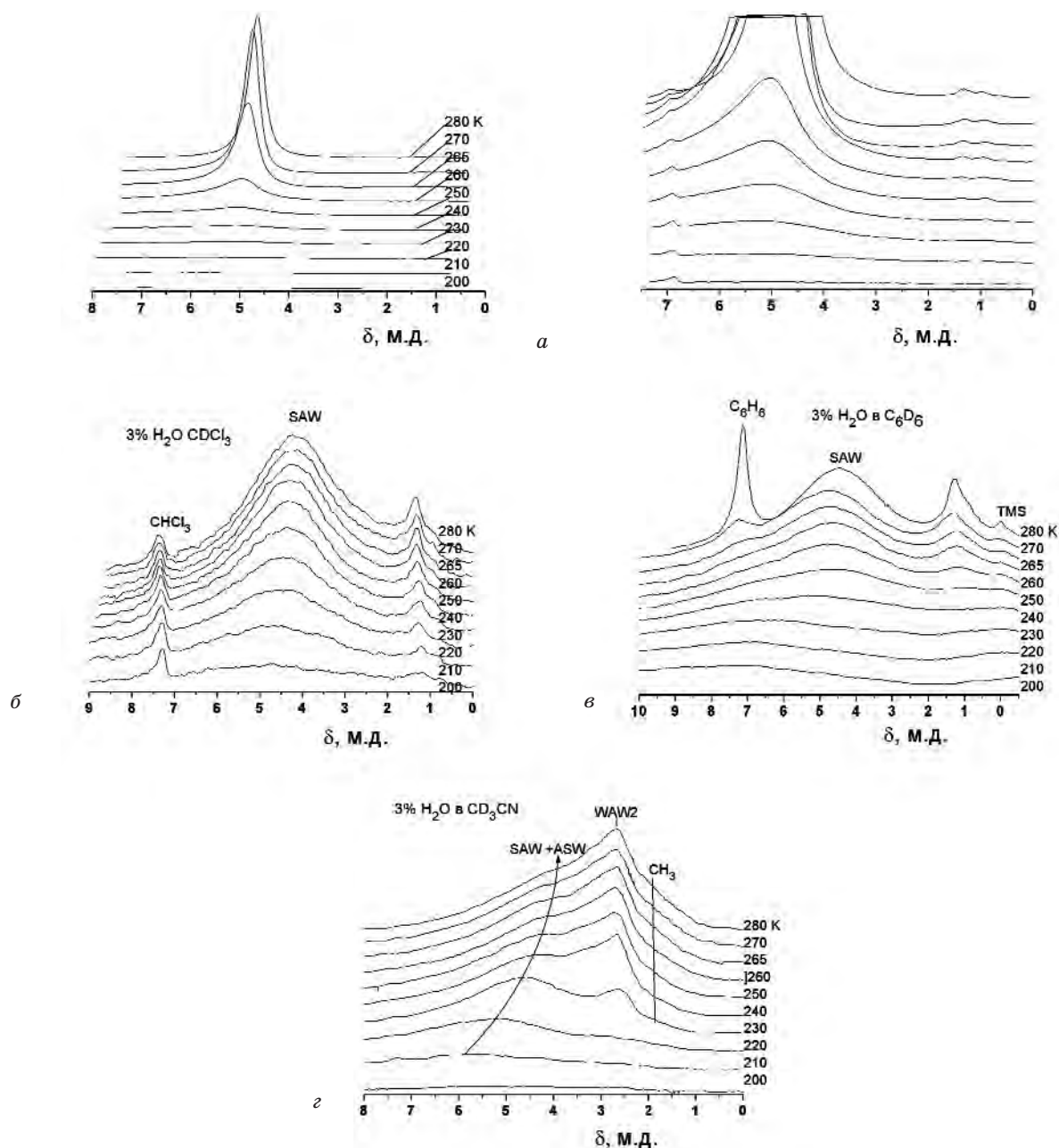


Рис. 4. Снятые при разных температурах спектры ^1H ЯМР воды, в суспензиях нанокompозита SiO_2 -ДНК в воде при $\text{C}_{\text{H}_2\text{O}} = 50\%$ мас (а), CDCl_3 (б), C_6D_6 (в) и CD_3CN (г) при $\text{C}_{\text{H}_2\text{O}} = 3\%$ мас

в спектрах при $T < 220$ К (рис. 4, г). Химический сдвиг слабоассоциированной воды в среде ацетонитрила несколько больше ($\delta_{\text{H}} = 2,5$ м.д.), чем в среде слабополярных растворителей. Это позволяет предполагать возможность существования в композите SiO_2 -ДНК двух ее форм — WAW1 и WAW2. Вероятно, WAW2 отвечает несколько более упорядоченным кластерам воды, которые стабилизируются полярной средой. Химический сдвиг сигнала SAW с ростом температуры уменьшается от 6 м.д. при 200 К до 4 м.д. при 280 К. Такая резкая зависимость

$\delta_{\text{H}}(T)$ может быть связана с возможностью существования воды как в виде кластеров сильноассоциированной воды, так и в виде водородно-связанных комплексов $\text{HO}\cdots\text{H}\cdots\text{N}\cdots\text{CCD}_3$ (ASW), локализованных в среде жидкого ацетонитрила. Поскольку в спектрах присутствует только один сигнал, следует предполагать наличие быстрого молекулярного обмена между этими состояниями [15]. При замерзании ацетонитрила химический сдвиг SAW становится заметно большим, чем для жидкой воды. Это может быть обусловлено формированием водородных связей

между молекулами воды, расположенными снаружи кластеров SAW, и молекулами ацетонитрила. В результате среднее координационное число воды увеличивается. Слабоинтенсивный широкий сигнал в области $\delta_H = 2$ м.д. следует относить к сигналу метильных групп непродейтерированной составляющей ацетонитрила.

На рис. 5 представлена температурная зависимость концентраций разных форм воды, полученная на основе измерения интенсивности сигналов в спектрах 1H ЯМР, а на рис. 6 — рассчитанные в соответствии с формулой (3) распределения по размерам кластеров SAW. При содержании в нанокompозите 50% мас воды средний размер кластеров составляет 4 нм. Для нанокompозита, содержащего 3% мас адсорбированной воды в среде слабополярных растворителей, средний размер кластеров SAW близок к 1 нм.

На рис. 7, 8 приведены снятые при разных температурах спектры 1H ЯМР воды, адсорбированной нанокompозитом SiO_2 -ДНК в смесях хлороформа и бензола с электронодонорными растворителями — ацетонитрилом, ДМСО и пиридином при $C_{H_2O} = 3$ и 6% мас. В бинарной смеси 2:1 $CDCl_3/CD_3CN$ (рис. 7, а) кроме сигналов CH_3 и CH групп ацетонитрила и хлороформа разделяются регистрируются SAW (или SAW+ASW), WAW1 и WAW2. Сигнал WAW1 слабо изменяется с понижением температуры, в то время как сигнал WAW2 проявляет способность как к уменьшению за счет замерзания воды при $T < 230$ К, так и к росту из-за перехода в слабоассоциированное состояние части воды, идентифицируемой как SAW+ASW (рис. 7, а, б).

В смеси $CDCl_3/DMCO-d_6$ (рис. 6, б, в) сигнал метильных групп ДМСО точно совпадает с химическим сдвигом WAW2. О присутствии в суспензии кроме WAW1 также

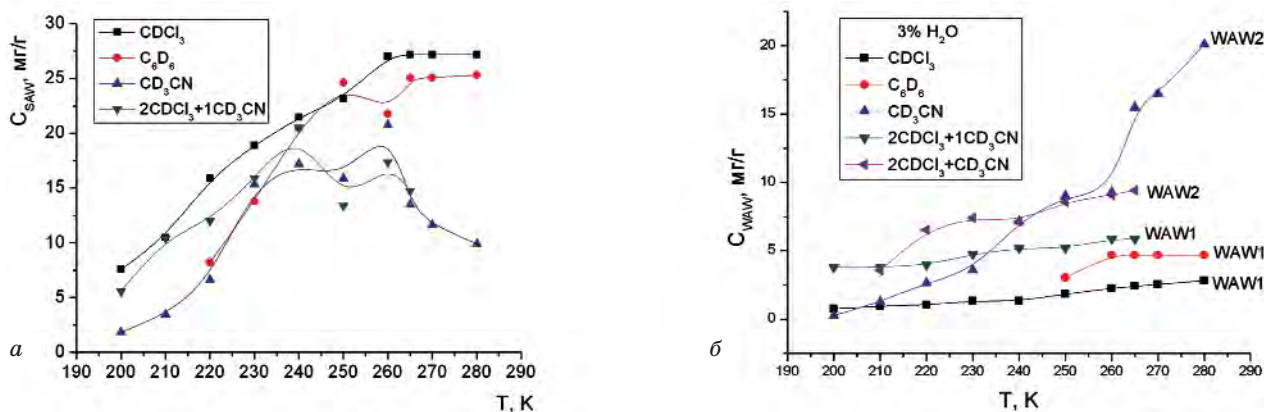


Рис. 5. Температурная зависимость концентрации сильно- и слабоассоциированной воды в нанокompозите SiO_2 -ДНК, содержащем 3% мас воды в среде органических растворителей для сильноассоциированной (а) и слабоассоциированной (б) воды

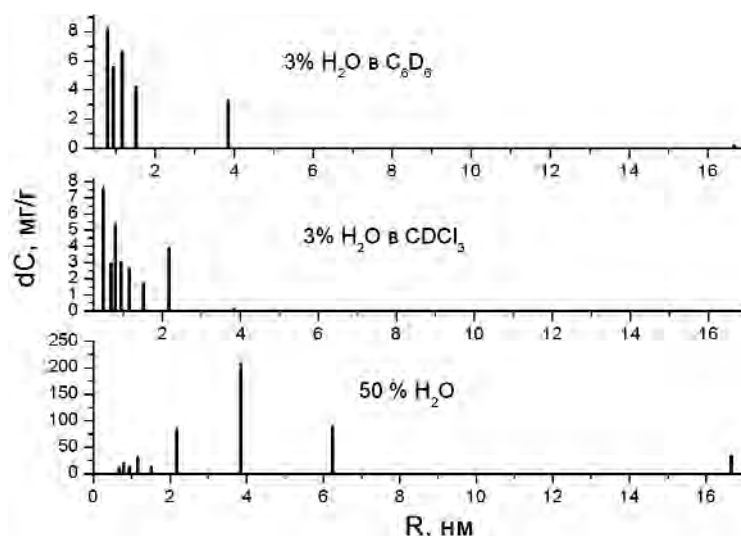


Рис. 6. Распределение по размерам кластеров сильноассоциированной воды в нанокompозите SiO_2 -ДНК

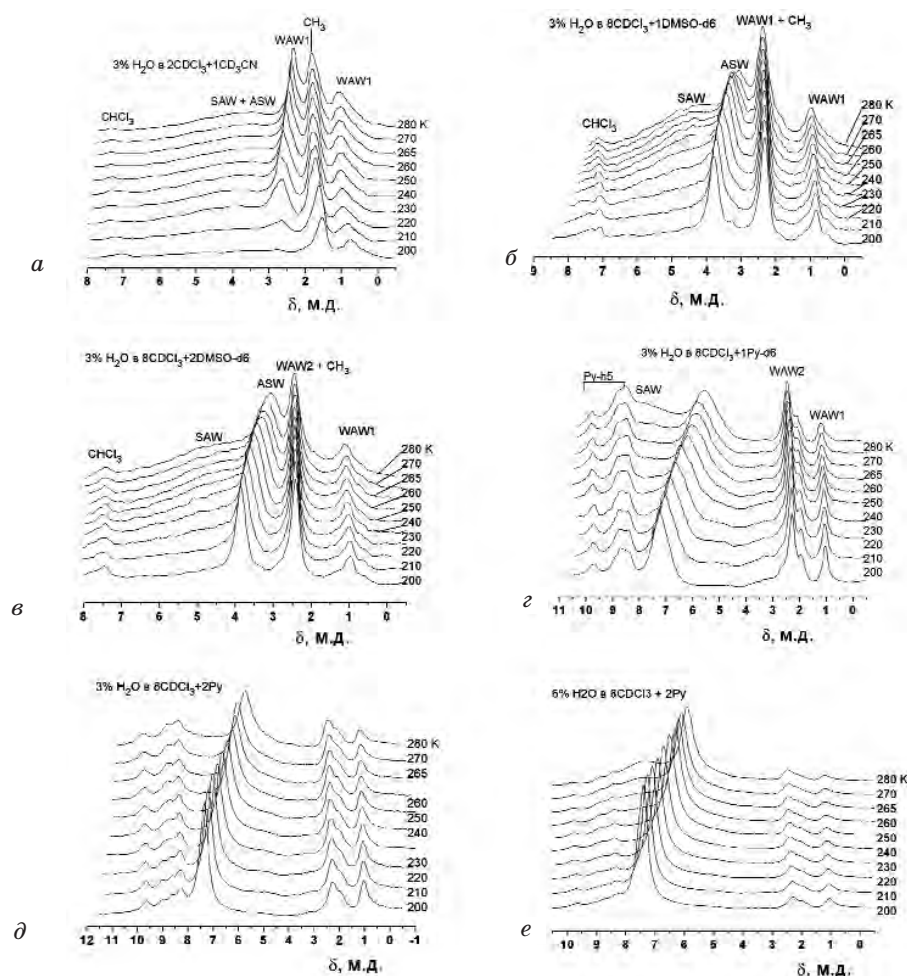


Рис. 7. Снятые при разных температурах спектры ^1H ЯМР воды, адсорбированной нанокomпозитом SiO_2 -ДНК в суспензии CDCl_3 с добавками электронодонорных органических растворителей: *a* — CD_3CN ; *б, в* — ДМСО- d_6 ; *г, д, е* — Py-d_5 при содержании воды в образцах 3% мас (*a-д*) и 6% мас (*е*)

и WAW2 свидетельствует температурное изменение интенсивности сигнала с химическим сдвигом $\delta_{\text{H}} = 2,5$ м.д. Однако, в отличие от смеси $\text{CDCl}_3/\text{CD}_3\text{CN}$, рост сигнала WAW2 происходит не с увеличением, а с понижением температуры, т. е. с ростом температуры часть WAW2 трансформируется в ASW, которая регистрируется отдельно от SAW (рис. 6, б, в). Как и WAW2, с ростом температуры около 280 К SAW имеет тенденцию к уменьшению за счет перехода воды в жидкую фазу, где она существует в виде водородно-связанных комплексов $\text{HO-H}\dots\text{O}=\text{S}(\text{CD}_3)_2$ (ASW). С возрастанием концентрации ДМСО (рис. 6, в) концентрация SAW уменьшается, а ASW — растет. Химический сдвиг SAW практически не отличается от такового жидкой воды.

При замене ДМСО пиридином (рис. 7, г-е) в спектрах отдельно регистрируются сигналы WAW1 и WAW2. Раздельная регистрация сигналов SAW и ASW зависит от температуры и соотношения концентраций компонен-

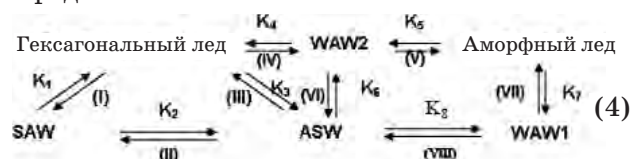
тов. Вероятно, SAW легко замерзает, т. е. является слабосвязанной, поэтому регистрируется только при относительно высокой температуре. Обращает на себя внимание большая величина химического сдвига как для SAW, так и для ASW ($\text{HO-H}\dots\text{NC}_5\text{H}_5$). Она может достигать $\delta_{\text{H}} = 7,5$ м.д., что несколько больше, чем для тетраординированной воды, формирующей кристаллы гексагонального льда [20]. Это может быть связано со способностью молекул пиридина переходить в протонированное состояние [21]. Учитывая, что кластеры SAW относятся к межфазной воде, связанной частицами нанокomпозита, а ASW — к воде, растворенной в органической фазе, можно предположить, что ионы пиридина формируются как на поверхности, так и в жидкой органической среде. Понижение температуры стабилизирует комплексы с перенесенным протоном. Соответственно химический сдвиг ASW смещается в область слабых магнитных полей.

Поскольку при $T < 280$ К бензол легко замерзает, в смесях органических растворителей, приготовленных на основе бензола, состояние межфазной воды зависит не только от соотношения концентраций компонентов, но и от фазового состояния дисперсионной среды, о котором можно судить по присутствию в спектрах сигналов протонов непродейтерированной составляющей органических растворителей. В спектрах нанокompозита, помещенного в смесь 3:3 C_6D_6/CD_3CN , сигнал СН-групп бензола наблюдается при $T > 230$ К, а CH_3 -групп ацетонитрила — при $T > 250$ К (рис. 8, а). Следовательно, дисперсионная среда замерзает как единая фаза после начала кристаллизации бензола. При 280 К в спектрах разделяльно регистрируются сигналы SAW и WAW1. Концентрация слабоассоциированной воды примерно вдвое меньше, чем сильноассоциированной. Замерзание органической фазы сопровождается уменьшением интенсивности сигнала WAW и его смещением в слабые магнитные поля таким образом, что при $T < 240$ К имеет место трансформация $WAW1 \leftrightarrow WAW2$. С повышением концентрации ацетонитрила (рис. 8, б) доля слабоассоциированной воды увеличивается за счет снижения концентрации SAW.

В смесях $C_6D_6/DMCO$ (рис. 8, в, г) дисперсионная среда находится в замерзшем (или частично замерзшем) состоянии уже при $T < 270$ К. Это вызывает значительное уширение сигналов межфазной воды. При

$C_6D_6/DMCO$, равном 5:1, в спектрах разделяльно регистрируются сигналы SAW и WAW1, интенсивность которых близка (рис. 8, в). С ростом концентрации DMCO его растворимость в твердом бензоле уменьшается (о чем свидетельствует появление сигнала протонов метильных групп). Происходит также перераспределение интенсивности между сигналами SAW и WAW1 в сторону повышения вклада SAW. При $T = 280$ К сигнал SAW имеет тенденцию к уширению, которая, вероятно, обусловлена появлением ASW.

В общем виде процессы, происходящие в гидратированном порошке нанокompозита SiO_2 -ДНК в среде органических растворителей при температуре ниже 273 К, могут быть представлены схематично:



В среде слабополярных органических растворителей ($CDCl_3$, C_6D_6) с понижением температуры наблюдается процесс (I) — замерзание сильноассоциированной воды. Методами рентгеновской спектроскопии показано, что при замерзании водно-органических систем при температуре $T > 200$ К вода переходит в форму гексагонального льда [21]. Замерзание слабоассоциированной воды (WAW1) происходит только при очень

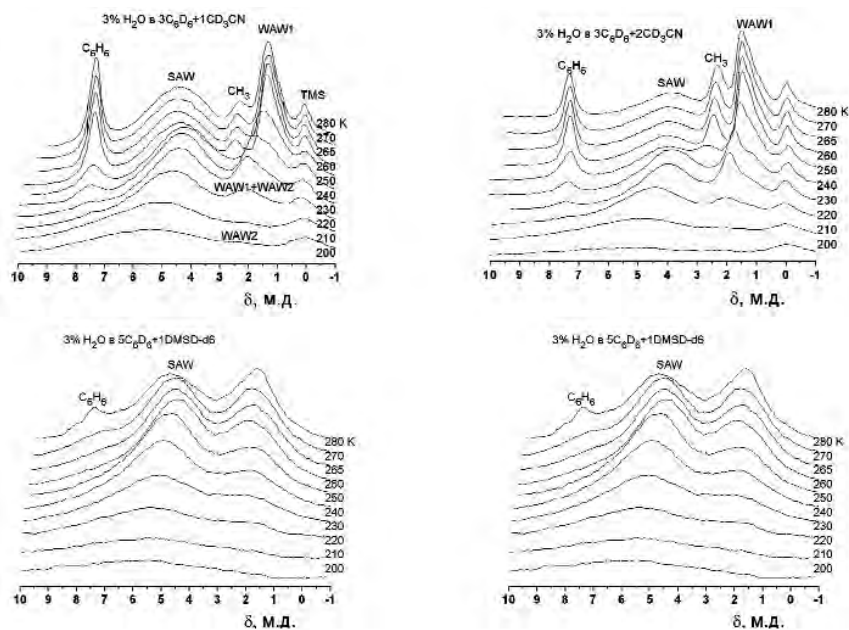


Рис. 8. Снятые при разных температурах спектры 1H ЯМР воды в суспензиях нанокompозита SiO_2 -ДНК в C_6D_6 , содержащих добавки электронодонорных растворителей: CD_3CN (а, б) и $DMCO-d_6$ (в, г) при содержании адсорбированной воды 3% мас

низкой температуре, что позволяет предполагать наличие равновесия (VII). При введении в дисперсионную среду электронодонорных веществ (CD_3CN , $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$, $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}$) при разной температуре и соотношении концентраций компонентов могут реализовываться равновесия (II)–(VI). Температурная зависимость изменения концентрации SAW, ASW, WAW1 и WAW2 для гидратированного порошка нанокompозита SiO_2 -ДНК в смешанных средах, приготовленных на основе хлороформа, приведена на рис. 8, 9, а на основе бензола — рис. 10. Несмотря на то, что эти растворители являются слабополярными из-за высокой температуры замерзания в суспензиях, приготовленных на основе бензола, в широком температурном интервале возможно замерзание дисперсионной среды. Таким образом, можно было сравнить влияние на межфазную воду жидкой и твердой фаз с регулируемыми гидрофильными характеристиками.

В смесях хлороформа с наиболее слабым электронодонорным растворителем — ацетонитрилом с понижением температуры наблюдается уменьшение интенсивности сигналов SAW+ASW, WAW1 и WAW2 (рис. 5, 7, а). Поскольку изменение интенсивности слабоассоциированных форм воды относительно невелико, можно сделать вывод, что имеют место процессы (V) и (VII). Химический сдвиг SAW не превышает 4 м. д., что свидетельствует о совместной регистрации сигналов SAW и ASW, между которыми имеет место быстрый молекулярный обмен, т. е. на межфазной границе нанокompозита реализуются равновесия (I), (II) и (III). В присутствии ДМСО (рис. 7, б, в и 9, а, б) молекулярный обмен между SAW и ASW замедляется, и сигналы этих форм воды регистрируются раздельно. С понижением температуры существенно уменьшается только интенсивность сигнала SAW [процесс (I)]. Большой разброс точек на кривых зависимостей $C_{uw}(T)$ (рис. 9) обусловлен снижением точности определения площади пиков ЯМР при необходимости интегрирования нескольких близко расположенных сигналов с разной шириной. Из рис. 8 следует, что концентрация слабоассоциированных форм воды (WAW1 + WAW2) достигает 10 мг/г, что составляет около трети всей связанной воды. Следовательно, в отличие от исходного кремнезема [10], нанокompозит SiO_2 -ДНК способен стабилизировать значительное количество слабоассоциированных форм воды.

В присутствии пиридина (рис. 9, в, г) при $T > 250$ К рост концентрации ASW происхо-

дит синхронно с уменьшением концентрации SAW, что свидетельствует о наличии равновесия (II). Кроме того, с понижением температуры наблюдается ощутимый рост концентрации WAW1, который может происходить за счет перехода в слабоассоциированное состояние некоторой части воды, растворенной в жидкой среде [равновесие (VIII)]. Возможны также и более сложные превращения с участием разных форм воды, выделить которые невозможно из-за относительно малой точности определения интенсивности сигналов разных типов кластеров межфазной воды.

При добавлении в CDCl_3 (рис. 6) ДМСО или пиридина распределение по размерам кластеров сильноассоциированной воды, связанной нанокompозитом SiO_2 -ДНК, существенно изменяется (рис. 9, д). С ростом концентрации полярной добавки или увеличением ее электронодонорной способности проявляется тенденция к увеличению размера кластеров SAW. Так, если в среде чистого CDCl_3 размер кластеров SAW не превышал 2 нм (рис. 6), то рост концентрации ДМСО и замена его на Py (пиридин) сопровождается появлением кластеров, размер которых может достигать 16,6 нм (рис. 9, д). Однако двукратное увеличение концентрации воды в присутствии Py привело к росту количества кластеров воды размером 1,5–4 нм.

В случае, когда основным компонентом дисперсионной среды является бензол, в зависимости от температуры гидратированный порошок нанокompозита SiO_2 -ДНК может находиться в жидкой или твердой среде. От таяния смеси органических растворителей ($\text{C}_6\text{D}_6 + \text{CD}_3\text{CN}$ или $\text{C}_6\text{D}_6 + \text{ДМСО}$) свидетельствует появление в спектрах (рис. 8) сигналов метильных групп электронодонорной добавки. На рис. 10 приведена температурная зависимость изменения концентрации разных форм воды для дисперсионных сред, приготовленных на основе бензола с добавками CD_3CN (а, б) и ДМСО (в, г). В присутствии CD_3CN зависимость $C_{\text{SAW}}(T)$ имеет сложный вид. В широком температурном интервале ($T > 240$ К) регистрируется рост концентрации сильноассоциированной воды с понижением температуры. При этом в спектрах фиксируется сигнал WAW1, а после замерзания дисперсионной среды — сигнал WAW2. С понижением температуры C_{SAW} и C_{WAW2} уменьшаются за счет замерзания воды в результате смещения равновесий (I) и (IV). Наиболее вероятным путем трансформации WAW1–WAW2 может быть последовательное осуществление процессов

(VI) и (VIII). Причиной уменьшения с ростом температуры величины C_{SAW} может служить смещение равновесия (II). При этом, хотя сигнал ASW не регистрируется в спектрах (возможно, из-за его большой ширины), растворенная в дисперсионной среде вода может присутствовать в виде сольватных структур, локализованных преимущественно на межфазных границах частиц нанокompозита, что объясняет малую подвижность молекул этого типа воды.

При замене ацетонитрила на ДМСО (характеризующегося более высокой температурой замерзания) в спектрах идентифицируются только широкие сигналы WAW1 и SAW (или SAW+ASW) (рис. 7). Зависимость $C_{SAW}(T)$ и $C_{WAW1}(T)$ (за исключением участка, отвечающего $T > 260$ К для образца с соотношением концентраций органических компонентов 5:1) изменяется симбатно, что позволяет предположить наличие взаимосвязи между C_{WAW1} и количеством неза-

мерзшего вещества (SAW, ASW, C_6H_5 , ДМСО), локализованного вблизи межфазной границы нанокompозита. Эта особенность поведения межфазной воды позволяет рассчитывать распределения по размерам кластеров незамерзающей воды не только для SAW, но и для WAW1 (рис. 10, ∂). При этом для кластеров слабоассоциированной воды фиксируются достаточно большие радиусы кластеров (вплоть до 16,6 нм). Вероятно, эти значения характеризуют водно-органические структуры, в состав которых входят кластеры WAW1, находящиеся в незамерзшем состоянии. После их замерзания сигнал слабоассоциированной воды (включенной в твердую органическую матрицу) перестает регистрироваться в спектрах, аналогично тому, как это происходит с сигналами метильных групп твердых ДМСО или ацетонитрила.

Можно ожидать, что полученные различия в строении слоев воды на межфазных границах нанокompозитов будут сказываться

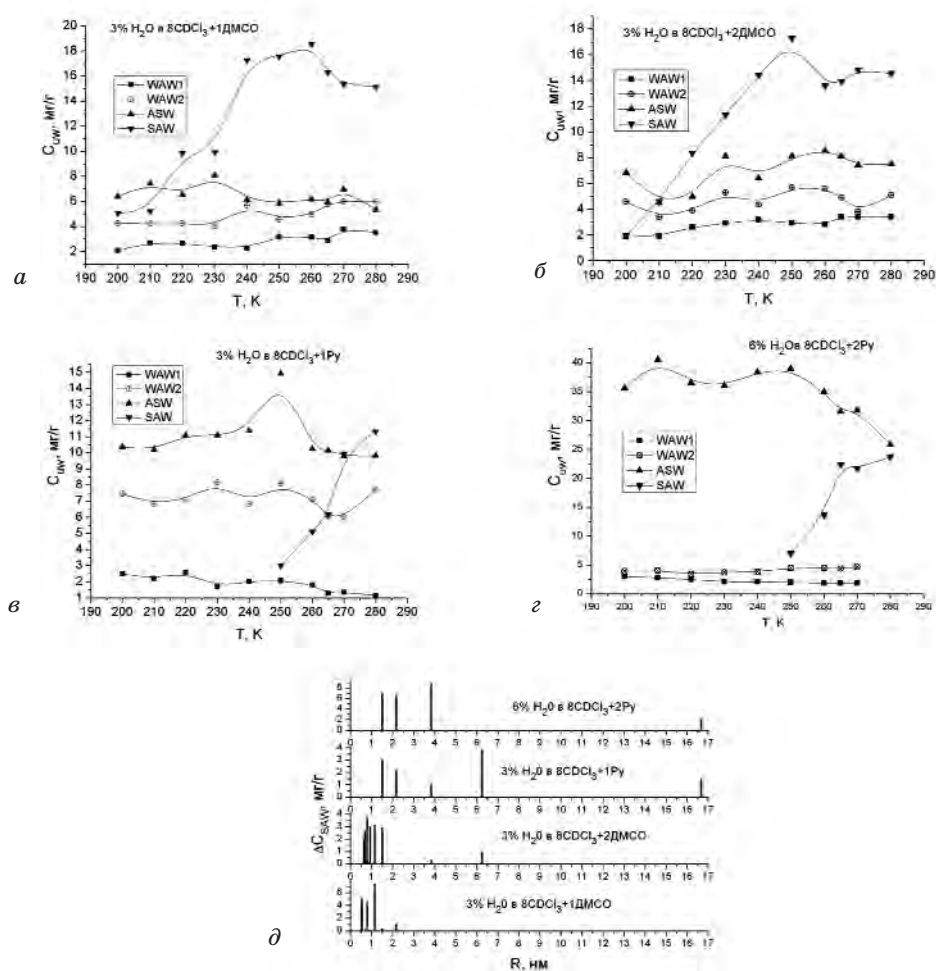


Рис. 9. Температурная зависимость концентрации разных форм воды, связанной с нанокompозитом SiO_2 -ДНК в среде смешанных растворителей: $CDCl_3$ +ДМСО (а, б) и $CDCl_3$ +Py (в, з), а также рассчитанные на их основе распределения по размерам кластеров SAW (д)

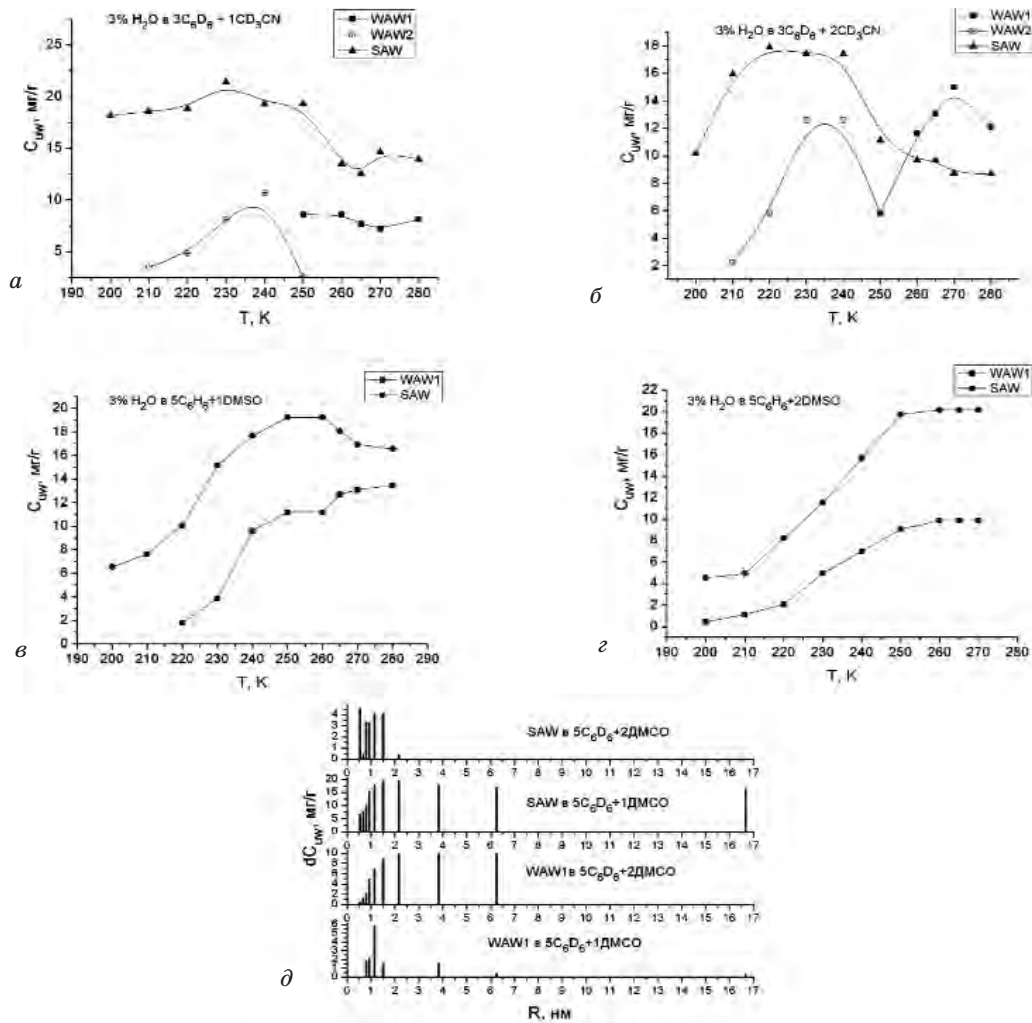


Рис. 10. Температурная зависимость концентрации разных форм воды, связанной с наноккомпозитом SiO₂-ДНК в среде смешанных растворителей: C₆D₆+CD₃CN (а, б) и CDCl₃+DMCO (в, г), а также рассчитанные на их основе распределения по размерам кластеров SAW и WAW1 (д)

и на их биологической активности при контакте с клетками или микроорганизмами [22]. С этой целью было изучено влияние исследуемых материалов на параметры газовой выделительной активности дрожжевыми клетками *Saccharomyces cerevisiae*.

Saccharomyces cerevisiae — штамм пекарских дрожжей, обладающих типичными видовыми свойствами. Они представляют собой однородные по морфологии, овальные клетки, обладающие толстой клеточной стенкой и типичной для эукариот структурой [17]. Дрожжевые клетки обладают способностью к регулированию биохимических процессов в зависимости от условий их культивирования. Регуляторные механизмы, определяющие скорость роста дрожжей, присутствуют на многих уровнях организации дрожжевой клетки и функционируют в зависимости от состава питательной среды.

Нами было исследовано влияние наноккомпозита SiO₂-ДНК и его составляющих на

жизнедеятельность суспензии дрожжевых клеток *Saccharomyces cerevisiae*. Определялись абсолютные величины и динамика выделения углекислого газа в процессе брожения. Измерение количества CO₂, выделившегося в результате процесса брожения, проводилось при фиксированной температуре (T = 37 °C), исходной массе дрожжевых клеток и количестве питательных веществ (глюкозы). В качестве контроля использовали суспензию клеток, не содержащих ДНК или частиц нанодисперсного кремнезема. Исследовалась биоактивность наноккомпозита SiO₂-ДНК и его компонентов, взятых в том же количестве, в каком они присутствовали в композите, а также биологическая активность разных концентраций ДНК и чистого кремнезема (табл.). На рис. 11 приведены кинетические кривые выделения углекислого газа дрожжевыми клетками в течение первых 10 ч процесса брожения.

Биоактивность нанокompозита SiO₂-ДНК и его компонентов, а также разных концентраций ДНК и чистого кремнезема

| № п/п | Исследованные соединения | Масса навески вещества, г | Интегральное выделение углекислого газа | |
|-------|--|---------------------------|---|------|
| | | | 10 ч | 32 ч |
| 1 | контроль | | 3,28 | 3,15 |
| 2 | ДНК | 0,003 | 3,36 | 3,21 |
| 3 | | 0,006 | 2,68 | 2,62 |
| 4 | | 0,012 | 2,86 | 2,77 |
| 5 | | 0,018 | 2,86 | 2,77 |
| 6 | | 0,038 | 2,67 | 2,60 |
| 7 | | SiO ₂ | 0,031 | 3,29 |
| 8 | 0,047 | | 3,70 | 3,12 |
| 9 | 0,063 | | 3,45 | 2,94 |
| 10 | 0,094 | | 3,86 | 3,2 |
| 11 | 0,125 | | 3,89 | 3,18 |
| 12 | 0,189 | | 4,49 | 2,81 |
| 13 | 0,06 г ДНК на поверхности SiO ₂ | 0,002 | 3,22 | 2,87 |
| 14 | | 0,005 | 2,92 | 2,64 |
| 15 | | 0,01 | 3,00 | 2,71 |
| 16 | | 0,05 | 3,10 | 2,77 |
| 17 | | 0,1 | 3,57 | 3,09 |
| 18 | | 0,15 | 3,78 | 3,22 |
| 19 | | 0,2 | 4,27 | 3,67 |
| 20 | | 0,25 | 3,98 | 3,44 |

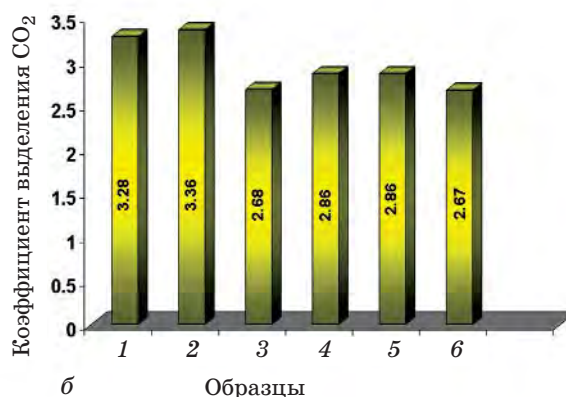
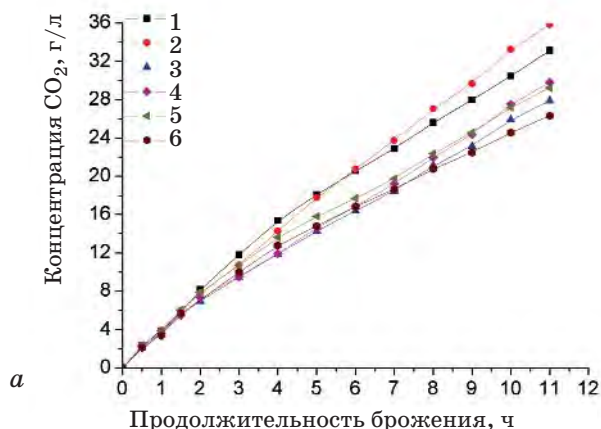


Рис. 11. Кинетические кривые выделения углекислого газа дрожжевыми клетками в течение 10 ч (а): 1 — контроль; в присутствии ДНК с разной концентрацией: 2 — 0,003 г; 3 — 0,006 г; 4 — 0,012 г; 5 — 0,018 г; 6 — 0,038 г; интегральные количества выделившегося CO₂ (б)

Из полученных результатов (рис. 11, табл.) следует, что при введении в дрожжевую суспензию чистой ДНК на протяжении первых 2 ч брожения выделение CO₂ происходит одинаково для всех исследуемых образцов, независимо от концентрации ДНК. В течение следующих двух часов хорошо прослеживается угнетающее действие ДНК, после чего в образце с минимальным количеством ДНК (0,003 г) происходит некоторое активирование процесса газовой выделению, ко-

торое со временем увеличивается (рис. 11). Для больших концентраций ДНК такой эффект не наблюдается, имеет место стабильное угнетение метаболизма клеток в суспензии, которое слабо зависит от концентрации ДНК.

На рис. 12, а приведены кинетические кривые выделения углекислого газа суспензией дрожжевых клеток в присутствии композита SiO₂-ДНК и его компонентов. Из рисунка видно, что на начальной стадии брожения (до 2 ч) активный процесс газовой выделению про-

исходит практически одинаково для образцов, содержащих наноккомпозит SiO₂-ДНК, и взятый в том же количестве индивидуальный ВДК. В присутствии нативной ДНК (взятой в том же количестве, в каком она содержалась в наноккомпозите) на начальной стадии регистрируется незначительное уменьшение (по сравнению с контролем) выделения CO₂, что может быть обусловлено стадией приспособления клеток к новым компонентам среды. После 2-часового культивирования суспензии дрожжевых клеток с чистой ДНК фиксируется стабильное уменьшение газовой выделения. Это свидетельствует о существенном ингибирующем влиянии ДНК на процессы клеточного метаболизма. При введении в суспензию чистого кремнезема или наноккомпозита SiO₂-ДНК наблюдается значительное повышение газовой выделения, которое максимально в первые 10 ч процесса брожения. Следовательно, иммобилизация ДНК на поверхности кремнезема существенно уменьшает ее негативное влияние на дрожжевые клетки. На рис. 12, б представлена диаграмма интегрального газовой выделения за первые 10 ч брожения. Из рисунка видно, что наибольшая активность выделения углекислого газа наблюдается в присутствии кремнезема (0,189 г), тогда как при введении в суспензию наноккомпозита SiO₂-ДНК (0,2 г) имеет место тенденция к некоторому уменьшению выделения CO₂. Возможно, закрепленная на поверхности кремнезема ДНК несколько препятствует его взаимодействию с мембранными протеинами дрожжевых клеток, что замедляет процессы клеточного метаболизма.

Таким образом, можно констатировать, что наноккомпозит SiO₂-ДНК способствует процессам жизнедеятельности суспензии хлебопекарских дрожжей по сравнению с контролем и нативной ДНК, что свидетельствует о его высокой биологической активности и совместимости с клеточными структурами. Это дает основание к дальнейшему его тестированию при контакте с более сложными биологическими объектами.

Адсорбционное модифицирование поверхности нанокремнезема полинуклеотидами влечет за собой структурную дифференциацию адсорбированной на нем воды, которая для сильногидратированного (C_{H₂O} = 50% мас) композита выражается в появлении в спектрах ¹H ЯМР наряду с сигналом сильноассоциированной воды (SAW) с химическим сдвигом δ_H = 4,5 м. д. сигналов слабоассоциированных форм воды (WAW), регистрируемых в области δ_H = 1–2 м. д. Для слабогидратированных образцов (C_{H₂O} = 3–6% мас) наноккомпозита в среде органических растворителей концентрация WAW может достигать трети от общего количества адсорбированной воды. Обнаружена возможность существования двух типов слабоассоциированной воды — WAW1 и WAW2, различающихся по величине химического сдвига (δ_H = 1,3 и 2,5 м. д., соответственно). Слабоассоциированные формы воды присутствуют в виде двух типов кластерных структур, различающихся средним числом водородных связей, приходящихся на каждую молекулу воды. В присутствии электронодонорных растворителей в спектрах может фиксироваться также сигнал воды, растворенной в жидкой фазе (ASW), находящейся

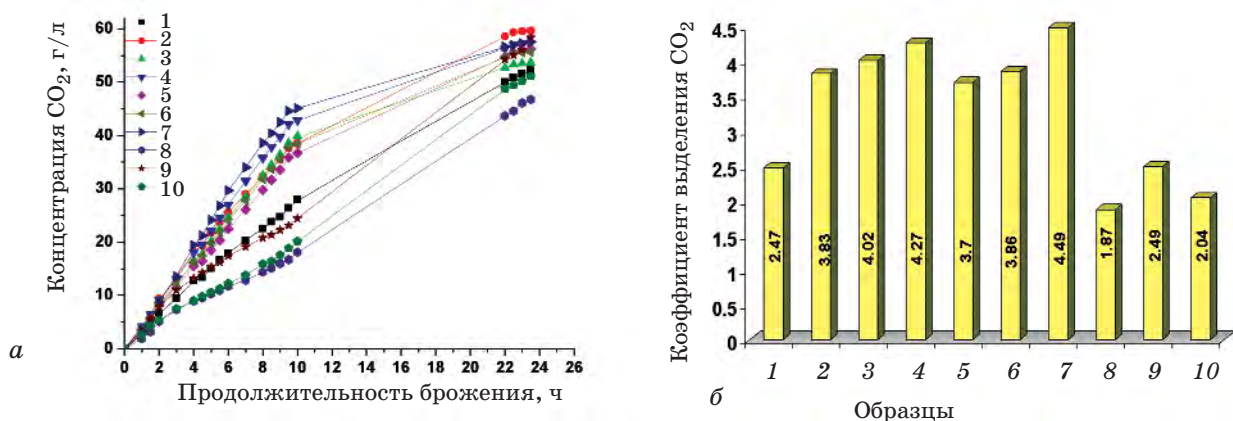


Рис. 12. Кинетические кривые выделения углекислого газа дрожжевыми клетками в присутствии наноккомпозита SiO₂-ДНК и соответствующих концентраций его составных — SiO₂ и ДНК за 25 ч (а) и интегральные количества выделившегося CO₂ в течение 10 ч (б): 1 — контроль, 2 — SiO₂-ДНК (0,05 г); 3 — SiO₂-ДНК (0,1 г); 4 — SiO₂-ДНК (0,2 г); 5 — SiO₂ (0,047 г); 6 — SiO₂ (0,094 г); 7 — SiO₂ (0,189 г); 8 — ДНК (0,018 г); 9 — ДНК (0,038 г); 10 — ДНК (0,075 г)

в виде водородно-связанных комплексов с электронодонорными центрами органических молекул. Концентрация ASW увеличивается с ростом температуры, количеством электронодонорной добавки и ростом ее электронодонорных способностей. Между разными формами межфазной воды возможно протекание реакции молекулярного обмена и взаимопревращения. Кроме заморзания воды с образованием гексагонального льда ($SAW \leftrightarrow Ice$, $ASW \leftrightarrow Ice$ и

$WAW \leftrightarrow Ice$), зарегистрирована возможность реакций $SAW \leftrightarrow ASW$, $ASW \leftrightarrow WAW2$, $WAW1 \leftrightarrow ASW \leftrightarrow WAW2$.

Работа выполнена при поддержке Украинского научно-технологического центра (проект № 3832) и международного гранта 7-й Европейской рамочной программы (FP7-IRSES «Compositum»), Marie Curie Action, PEOPLE, International Research Staff Exchange Scheme (IRSES).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния* / Под ред. А. А. Чуйко. — К.: Наук. думка, 2003. — 375 с.
2. *Вильцанюк А. А., Герашенко И. И.* Энтеросорбция в комплексном лечении острых хирургических заболеваний органов брюшной полости. — Харьков, 2009. — 128 с.
3. *Энтеросорбция* / Под ред. Н. А. Белякова. — Л.: Центр сорбционных технологий, 1991. — 336 с.
4. *Anglin E. J., Cheng L., Freeman W. R., Saylor M. J.* Sailor Porous silicon in drug delivery devices and materials // *Adv. Drug Deliv. Rev.* — 2008. — V. 60, N 11. — P. 1266–1277.
5. *Coffer J. L., Whitehead M. A., Nagesha D. K. et al.* Porous silicon-based scaffolds for tissue engineering and other biomedical applications // *Phys. Status Solidi A-Appl. Mat.* — 2005. — V. 202, N 8. — P. 1451–1455.
6. *Charnay C., Begu S., Tourne-Peteilh C. et al.* Inclusion of ibuprofen in mesoporous templated silica: drug loading and release property // *Eur. J. Pharm. Biopharm.* — 2004. — V. 57, N 3. — P. 533–540.
7. *Hamidi M., Azadi A., Rafiei P.* Hydrogel nanoparticles in drug delivery // *Adv. Drug Deliv. Rev.* — 2008. — V. 60. — P. 1638–1649.
8. *Gun'ko V. M., Voronin E. F., Nosach L. V. et al.* Adsorption and migration of poly(vinyl pyrrolidone) at a surface of fumed silica // *Adsorp. Sci. Technol.* — 2006. — V. 24, N 2. — P. 143–157.
9. *Gun'ko V. M., Voronin E. F., Nosach L. V. et al.* Nanocomposites with fumed silica/ poly(vinyl pyrrolidone), prepared with low content of solvents // *App. Surf. Sci.* — 2006. — V. 253, N 5. — P. 2801–2811.
10. *Гулько В. М., Туров В. В., Горбик П. П.* Вода на межфазной границе. — К.: Наук. думка, 2009. — 694 с.
11. *Gun'ko V. M., Turov V. V., Bogatyrev V. M. et al.* Unusual properties of water at hydrophilic/hydrophobic Interfaces // *Adv. Col. Interf. Sci.* — 2005. — V. 118, N 1–3. — P. 125–172.
12. *Turov V. V., Leboda R.* Application of 1H NMR Spectroscopy Method for Determination of Characteristics of Thin Layers of Water Adsorbed on the Surface of Dispersed and Porous Adsorbents // *Ibid.* — 1999. — V. 79, N 2–3. — P. 173–211.
13. *Термодинамические свойства индивидуальных веществ* / Под ред. В. П. Глушкова. — М.: Наука, 1978. — 495 с.
14. *Petrov O. V., Furo I.* NMR cryoporometry: Principles, application and potential // *Progr. NMR Spectr.* — 2009. — V. 54. — P. 97–122.
15. *Abragam A.* The Principles of Nuclear Magnetism. — Oxford University Press: Oxford, UK, 1961. — 264 p.
16. *Соловійова В. П., Сотнікова О. П., Лотюш Г. Д.* Експериментальне вивчення біостимуляторів з природної сировини // Доклінічні дослідження лікарських засобів (методичні рекомендації) / Під ред. О. В. Стефанова. — К.: МОЗ України, ДФЦ, Авіценна, 2001. — С. 497–502.
17. *Векишин Н. Л.* Биофизика ДНК-актиноциновых нано-комплексов. — Пушкино: Фотон-век, 2009. — 192 с.
18. *Киселев А. В., Лыгин В. И.* Применение инфракрасной спектроскопии для исследования строения поверхностных химических соединений и адсорбции // *Усп. хим.* — 1962. — Т. 31, № 3. — С. 351–384.
19. *Киселев А. В., Лыгин В. И.* Инфракрасные спектры поверхностных соединений и адсорбированных веществ. — М.: Наука, 1972. — 460 с.
20. *Kinney D. R., Chaung I-S., Maciel G. E.* Water and the Silica Surface As Studied by Variable Temperature High Resolution 1H NMR // *J. Am. Chem. Soc.* — 1993. — V. 115, N 15. — P. 6786–6794.
21. *Грагеров И. П., Погорельый В. К., Франчук И. Ф.* Водородная связь и быстрый протонный обмен. — К.: Наук. думка, 1978. — 214 с.
22. *Крупская Т. В., Барвинченко В. Н., Туров В. В.* Изучение природы стимулирующего воздействия нанокремнезема на клеточные объекты // *Химия, физика и технология повехности.* — 2008. — Вып. 14 — С. 511–523.

ГІДРАТНІ ВЛАСТИВОСТІ КОМПОЗИТНОГО
МАТЕРІАЛУ НА ОСНОВІ
ВИСОКОДИСПЕРСНОГО КРЕМНЕЗЕМУ
ТА ДНК

V. V. Turov¹
V. M. Barvinchenko¹
T. V. Krupська¹
V. M. Gun'ko¹
V. F. Chexun²

¹Інститут хімії поверхні ім. О. О. Чуйка
НАН України, Київ

²Інститут експериментальної патології,
онкології і радіобіології ім. Р. Є. Кавецького
НАН України, Київ

E-mail: v_turov@ukr.net

Кремнеземи широко використовують у біомедицині не тільки як супутні речовини, що надають лікарським формам необхідних фізико-хімічних властивостей, але і як самостійний лікарський засіб з вираженим детоксикуючим ефектом, що добре зарекомендував себе при лікуванні харчових отруєнь, бактерійних заражень і ранових інфекцій.

Створено нанокompatитну систему на основі високодисперсного кремнезему, модифікованого адсорбованою ДНК. Властивості композиту вивчено методами ЯМР-спектроскопії, термогравиметрії, ІЧ-спектроскопії. Проведено біометричні дослідження впливу композиту SiO₂-ДНК на суспензію клітин *Saccharomyces cerevisiae*. Показано, що нанокompatит виявляє значну біоактивність, оскільки може істотно прискорювати процеси життєдіяльності хлібопекарських дріжджів. Детально вивчено гідратацію композиту SiO₂-ДНК та вплив на неї середовища органічних розчинників. Виявлено кілька форм міжфазної води, у тому числі й слабоасоційованої, яка практично не утворює водневих зв'язків із сусідніми молекулами. Показано, що за варіювання температури чи введення в систему органічних речовин відбуваються взаємоперетворення між різними формами міжфазної води. Висловлено припущення, що саме слабоасоційована форма води може бути відповідальною за біосумісність із клітинами.

Ключові слова: нанокompatит кремнезем-ДНК, гідратація, сильно- та слабоасоційована вода, суспензія клітин хлібопекарських дріжджів *Saccharomyces cerevisiae*.

HYDRATED PROPERTIES
OF COMPOSITE MATERIAL BASED
ON NANOSILICA AND DNA

V. V. Turov¹
V. M. Barvinchenko¹
T. V. Krupська¹
V. M. Gun'ko¹
V. F. Chexun²

¹Chuiko Institute of Surface Chemistry
of the National Academy of Sciences
of Ukraine, Kyiv

²Kavetski Institute of Experimental Pathology,
Oncology and Radiobiology of the National
Academy of Sciences of Ukraine, Kyiv

E-mail: v_turov@ukr.net

Silica is widely used in biomedicine not only as concomitant matter giving dosage forms the required physical and chemical properties but also as independent medication with the expressed detoxicated effect proved itself to be active at treatment of the food poisonings, bacterial and wound infections.

A nanocomposite system was prepared with finely dispersed silica modified by adsorbed DNA. Nanocomposite properties were studied using NMR spectroscopy, thermogravimetry, and infrared spectroscopy. A biometric study of SiO₂-DNA composite influence was carried out for suspended *Saccharomyces cerevisiae* yeast cells. It was shown that the composite possesses a significant bioactivity since it can substantially accelerate the processes of vital functions of bakery yeasts. Hydration of SiO₂-DNA composite and influence of organic solvent media were studied in detail. It was found out some forms of interfacial water including weakly associated water that practically does not form the hydrogen bonds with neighboring molecules. It was shown that interconversion of different forms of interfacial water occurs at varying temperature or addition of organic compounds. It was assumed that weakly associated water could affect the biocompatibility of nanoparticles with respect to cells.

Key words: Silica-DNA nanocomposite, hydration, strongly and weakly associated water, suspension of *Saccharomyces cerevisiae* cells.