

УДК 541.183+544.723.2

ДОСЛІДЖЕННЯ БІОЛОГІЧНОЇ АКТИВНОСТІ КРЕМНЕЗЕМІВ, МОДИФІКОВАНИХ ДИ- ТА ТРИМЕТИЛСІЛІЛЬНИМИ ГРУПАМИ І СОРБИТОМ, ПО ВІДНОШЕННЮ ДО СПЕРМАТОЗОЇДІВ БИКІВ МЕТОДОМ ФОТОН-КОРЕЛЯЦІЙНОЇ СПЕКТРОСКОПІЇ

Настасієнко Н.С., Кузема П.О., Галаган Н.П., Покровський В.А.

Інститут хімії поверхні Національної академії наук України

E-mail: nastasienkon@ukr.net

Надійшла до редакції 09.03.2010

Сорбіт адсорбовано на поверхні високодисперсних кремнеземів, попередньо модифікованих ди- та триметилсілільними групами. Біологічну активність модифікованих кремнеземів відносно гамет биків вивчали методом фотон-кореляційної спектроскопії, аналізуючи параметри руху клітин. Додавання гідрофільних кремнеземів - А-300 та А-200 до середовищ з клітинами збільшує їх життєздатність. Біологічна активність частково гідрофобних метилкремнеземів майже не відрізняється від гідрофільних, за виключенням кремнеземів, з великою ступінню заміщення поверхневих гідроксильних груп. Адсорбція сорбіту на поверхні частково гідрофобних кремнеземів суттєво не змінює їх біологічної активності щодо бичачих сперматозоїдів.

Ключові слова: кремнезем, метил кремнезем, сорбіт, адсорбція, біологічна активність, бичачі сперматозоїди.

ВСТУП

Збереження генофонду вимираючих видів тварин є актуальною проблемою. Триває постійний пошук способів оптимізації умов зберігання та ефективного застосування репродуктивних клітин.

Дані [1] свідчать про перспективність використання кремнезему в кріосередовищах для репродуктивних клітин. Пірогенний високодисперсний кремнезем (ВДК), поверхне-вий шар якого складається з великої кількості гідроксильних груп, має високу сорбційну здатність щодо різних молекул. Завдяки цьому він являється перспективним носієм для створення на його основі іммобілізованих препаратів, або нанокомпозитів [2]. Крім того, ВДК широко використовується як допоміжний лікувальний засіб в медичній практиці.

Значний інтерес для дослідження представляє біологічна активність (БА) високодисперсних кремнеземів, модифікованих ди- та триметилсілільними групами, оскільки, відомо, що метилкремнеземи, на відміну від кремнеземів з гідрофільною поверхнею, є практично не токсичними при всіх степенях модифікування [3]. З іншого боку, є дані про можливість використання в кріосередовищах кремнеземів, модифікованих вуглеводами [4]. Зокрема, адсорбція сорбіту на кремнеземі може підвищити біосумісність кремнеземів з суспензією репродуктивних клітин, а відповідно і їх БА, оскільки сорбіт належить до ряду багатотомних спиртів, які відзначаються кріозахисними властивостями [5]. Тому в роботі було досліджено вплив адсорбції сорбіту на частково гідрофобізованих кремнеземах на їх БА. В дослідженні БА різних препаратів щодо рухливих

клітин, і, зокрема, сперматозоїдів тварин, відмінно зарекомендував себе метод фотон-кореляційної спектроскопії (ФКС) [6-9]. За допомогою нього можна визначити параметри руху клітин (циклічну частоту обертання, швидкість, відсоток рухливих клітин) та оцінити їх зміну під впливом досліджуваних матеріалів. Тому в даній роботі БА кремнеземів оцінювали методом ФКС по параметрах руху сперматозоїдів.

МАТЕРІАЛИ І МЕТОДИ

В якості тестових клітин використали розморожену після низькотемпературного заморожування в стандартному лактозо-гліцерин-жовтковому кріосередовищі сперму биків, яку доставляли із "Спермобанку" (Київська обл.). В дослідах використовували аморфні кремнеземи з питомою поверхнею 300 м²/г та 200 м²/г (А-300, А-200) (м.Калуш Івано-Франківської обл.).

Пірогенний кремнезем А-200 було модифіковано метилхлорсиланами. Процес хімічного модифікування здійснювали в реакторі з перемішуванням з урахуванням умов перебігу поверхневих хімічних реакцій диметил- і триметилсілілювання, узагальнених в [10], при 300°C протягом однієї години. Підготовку поверхні А-200 проводили при 200°C в сушильній шафі, а після модифікування здійснювали прогрів зразків у струмені сухого повітря при 180°C з метою видалення з поверхні залишку модифікаторів, які не прореагували, та продуктів хімічних реакцій. Тривалість кожної з двох останніх операцій складала дві години.

Під час проведення експериментів ступінь заміщення силанольних груп на метилсилільні регулювали кількістю введеного модифікатора і контролювали методом інфрачервоної спектроскопії. ІЧ спектри реєстрували за допомогою спектрофотометра "Specord M-80". Маса таблеток кремнезему, спресованих при 50 кгс/см^2 , складала $(30,0 \pm 0,5) \text{ мг}$.

Адсорбцію поліолів проводили в статичних умовах при кімнатній температурі. З цією метою у пробірки поміщали наважки ВДК по 100 мг, потім добавляли по 10 мл розчину поліолу і суміш перемішували. Через 0,5 години її центрифугували при 4000 об/хв протягом 15 хвилин. Величину адсорбції визначали за різницею концентрацій поліолу в розчині до та після взаємодії з кремнеземом, як описано в [11]. Концентрацію сорбіту визначали калориметричним методом, використовуючи фотокалориметр (КФК-2). Отримані результати порівнювали з калібрувальною кривою і знаходили кінцеву концентрацію сорбіту в розчині.

Кріоконсервовану сперму биків розморожували в 2,9 % розчині цитрату натрію (рН=7) при температурі 37°C . Готували серію проб з суспензією репродуктивних клітин та досліджуваними кремнеземами, які додавали до суспензії в концентраціях $2 \times 10^{-6} \% - 6 \times 10^{-1} \%$. Об'єм кожної проби становив 600 мкл. Контролем була клітинна суспензія, без домішок досліджуваних матеріалів. В'язкість клітинних середовищ, контрольного - без кремнезему, та з добавками кремнезему в концентраціях 0,01, 0,006, 0,0004 %, вимірювали за допомогою капілярного віскозиметра Освальда ВПЖ-4 як описано в [12].

Вимірювання біологічної активності проводили методом фотон-кореляційної спектроскопії (ФКС), в основі якого лежить реєстрація доплерівського зсуву частоти, який виникає в результаті розсіювання лазерного світла на рухливій частинці, використовуючи програмно-апаратний комплекс "Spectrolabs" [13]. При цьому, клітинну суспензію освітлювали лазерним пучком діаметром 500 мкм, довжиною хвилі 632,8 нм та потужністю - 0,2 мВт. Під час вимірювання в кюветі автоматично підтримувалася температура 37°C . Фотодетектор реєстрував світло, розсіяне під кутом 15°C , оскільки в роботах [14] продемонстровано, що він є оптимальним кутом для вивчення таких об'єктів, як сперматозоїди биків. Характеристикою розсіяного клітинами світла була виміряна корелометром комбінована автокореляційна функція (АКФ), яка складалась з АКФ для рухливих та нерухливих сперматозоїдів. В якості модельної функції, яка добре узгоджувалась з експериментальною АКФ, використовували суму двох функцій: функції Лоренца - для живих клітин, та повільно спадаючої поліноміальної функції для мертвих клітин [14]. Швидко спадаюча компонента АКФ несла інформацію про частоту обертання головки сперматозоїда ω (Гц), повільно спадаюча - про долю

рухливих клітин β (%). Похибка методу не перевищувала 1%. Експериментально одержані корелограми апроксимувались модельною формою кореляційної функції по методу найменших квадратів шляхом варіації β та ω . Середню швидкість руху в групі клітин V (мкм/с) розраховували по формулі:

$$V = \omega \cdot l, \quad (1)$$

де l - крок спіралі, для бичачих сперматозоїдів рівний 8,3 мкм. Приймавши, що енерговитрати клітини E (ум.од.) на рух у в'язкому середовищі пропорційні потужності рухливої клітини [15], цей параметр розраховували за формулою:

$$\dot{A} = 6\pi \cdot \eta \cdot r \cdot V^2 \cdot \beta \quad (2)$$

де η - коефіцієнт в'язкості середовища з репродуктивними клітинами бика, r - радіус клітини, V - швидкість руху. При розрахунку енерговитрат клітинної популяції враховували долю рухливих клітин у суспензії.

На дослідження серії клітинних суспензій з різними концентраціями досліджуваних матеріалів витрачали близько 1 години. Вимірювання повторювали щонайменше доти, поки клітини контрольного середовища не загинули. Оскільки активність клітинної популяції протягом часу вимірювання зменшувалась, то параметри руху клітин в дослідних та контрольних пробах порівнювали, враховуючи це зниження. З цією метою параметри руху контрольної суспензії клітин вимірювали на початку (X_{K1}) і в кінці - (X_{K2}) серії досліджень суспензії з різними концентраціями досліджуваних матеріалів. Значення відповідного параметру (X), в якому враховано зниження активності сперматозоїдів протягом часу вимірювання, розраховували за формулою:

$$X = X_i + \Delta X \cdot i, \quad (1)$$

де X_i - значення параметру, виміряне під час експерименту, ΔX - величина зменшення відповідного параметру в результаті зниження активності клітин, i - порядковий номер досліду з досліджуваною суспензією клітин. Величину ΔX розраховували за формулою:

$$\Delta X = \frac{X_{K1} - X_{K2}}{n}, \quad (2)$$

де n - кількість інтервалів часу між цими вимірюваннями.

Одним з параметрів, який використали для оцінки біологічної активності досліджуваних матеріалів - сумарне значення енерговитрат клітин, яке розраховували шляхом додавання значень, виміряних протягом експерименту:

$$E_{\text{сум.е.}} = E_{e.1} + E_{e.2} + \dots + E_{e.j}, \quad (3)$$

де j - порядковий номер виміру параметрів руху суспензії сперматозоїдів з певною концентрацією ВДК. Сумарні енерговитрати E сум.е. розраховували окремо для кожної досліджуваної концентрації кремнеземів і для контрольного середовища. Для

порівняння різних експериментів результати представляли у вигляді відношень вимірних параметрів руху для суспензії клітин з досліджуваними матеріалами до відповідних значень для контрольної суспензії. ($E_{\text{сум.е.}}/E_{\text{сум.к.}}$, V_e/V_k , β_e/β_k)

РЕЗУЛЬТАТИ ТА ЇХ ОБГОВОРЕННЯ

а) Хімічне модифікування пірогенного кремнезему метилхлорсиланами. ІЧ спектри деяких зразків, одержаних хімічним модифікуванням А-200 диметилдихлор- і триметилхлорсиланом (ДМДХС і ТМХС, відповідно) зображено на рис. 1.

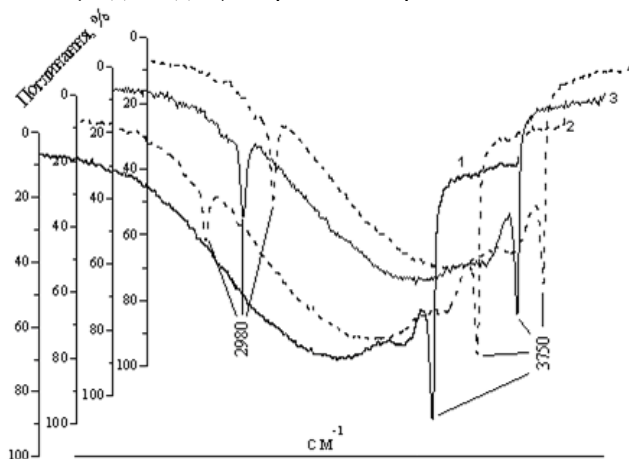
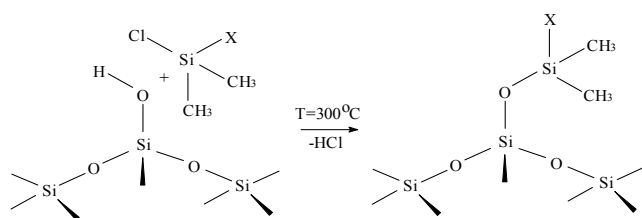


Рис.1. ІЧ-спектри немодифікованого (1) та модифікованого ДМДХС (2, 3) і ТМХС (4) кремнеземів (ступені заміщення силанольних груп: 2 – 0,25 (АМД-0,2); 3 – 0,38 (АМД-0,4); 4 – 0,35 (АМТ-0,4), відповідно)

В усіх випадках при модифікуванні спостерігались зменшення інтенсивності смуги поглинання з максимумом в області $3745\text{--}3750\text{ cm}^{-1}$ (валентні коливання гідроксильних груп) і поява смуг поглинання з максимумами в області $2980\text{--}2990\text{ cm}^{-1}$ (валентні коливання метильних груп), що підтверджує перебіг хімічних реакцій на поверхні за участю вільних гідроксилів.

Виходячи з літературних даних [10,16], перебіг процесу метилсилілювання відбувається за механізмом електрофільного заміщення протона в ізольованій силанольній групі поверхні ВДК. У нашому випадку уявляється найбільш імовірною наступна схема взаємодії ДМДХС і ТМХС з поверхнею А-200:



X = Cl (ДМДХС) або CH₃ (ТМХС)

б) Адсорбція сорбіту на метилкремнеземах.

Ізотерми адсорбції сорбіту на кремнеземах модифікованих ди- та триметилсілільними групами, які представлені на рис. 2, за класифікацією Джайлса [17] належать до типу S3, як і для адсорбції поліолу на А-300.

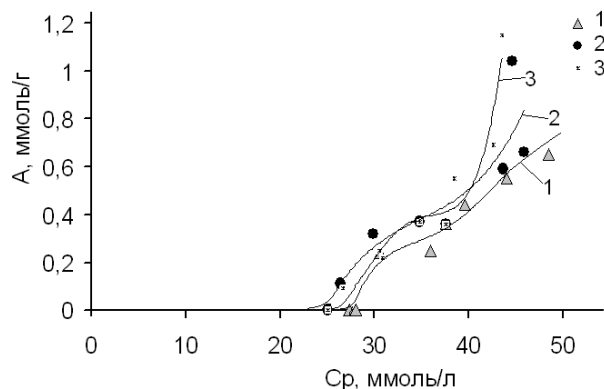


Рис. 2. Ізотерми адсорбції сорбіту на, АМД-0,2 – (1), АМД-0,4 – (2) та на АМТ-0,4 - (3)

Відомо [17], що S-тип ізотерм адсорбції може мати місце у випадку сильної взаємодії між молекулами адсорбату чи молекул адсорбату з молекулами розчинника. Вірогідно, що в даному випадку такий тип ізотерми зумовлений взаємодією молекул сорбіту з водою [18]. Можливо, саме завдяки конкуруючій адсорбції молекул сорбіту та води на ВДК, адсорбція сорбіту починається при вищих концентраціях. Відомо, що сорбіт, як і сам кремнезем, використовують в харчовій промисловості при зберіганні продуктів в умовах низьких температур, завдяки його вологоутримуючій здатності [2,5]. Тому, ймовірно, при досягненні вище вказаної концентрації майже всі молекули води під впливом поліолу входять до його водної оболонки. Тоді взаємодія між структурованою таким чином водою та поверхнею кремнезему зменшується в порівнянні з початковою стадією цього процесу, що і призводить до адсорбції молекул сорбіту. Перегин ізотерм, ймовірно, пов'язаний з утворенням моношару сорбіту на поверхні кремнезему. Зрозуміло, що питома площа досліджених метилкремнеземів зі збільшенням гідрофобізації зменшується. Судячи з ізотерм, представлених на рис.2, можна зробити висновок, що зі збільшенням ступеню гідрофобізації поверхні А-200 – адсорбція дещо збільшується. Отже, часткова гідрофобізація поверхні кремнезему не призводить до погіршення адсорбції сорбіту на ній, а навіть навпаки – сприяє кращій адсорбції сорбіту.

в) ФКС дослідження кремнеземів, модифікованих ди- та триметилсілільними групами.

Додавання до клітинного середовища кремнеземів А-300 і А-200 привело до підвищення значень всіх параметрів руху клітин порівняно з контролем. На рис.3 представлені відношення сумарної енергії клітин в присутності досліджуваних

матеріалів до сумарної енергії клітин в контрольному середовищі, розраховані для кожної концентрації досліджуваних препаратів. Було пораховано відносні збільшення швидкості та відсотку рухливих репродуктивних клітин биків під дією кремнеземів, виміряних протягом експерименту.

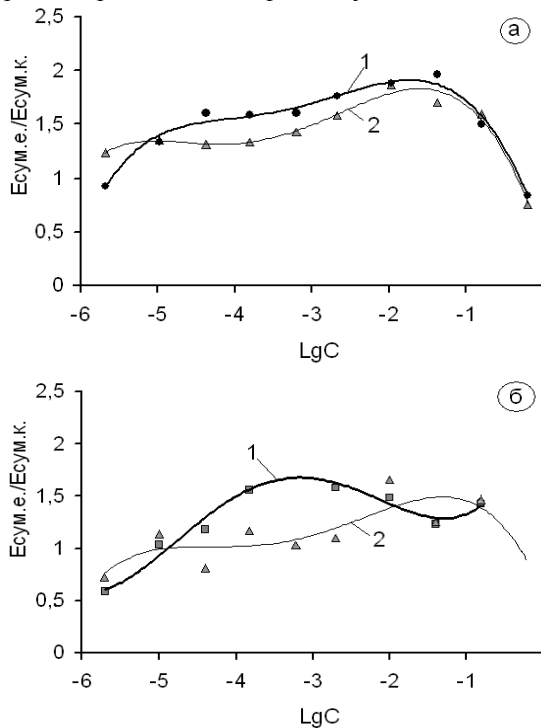


Рис.3. Залежність відношення $E_{сум.е.}/E_{сум.к.}$ від концентрації препарату в середовищі із деконсервованою спермою бика. $E_{сум.е.}/E_{сум.к.}$ (1 – для А-300, 2 - А-200 (а), 1 – АМД – 0,2, 2 – АМТ – 0,4 (б))

З рис.3а видно, що величина $E_{сум.е.}/E_{сум.к.}$ для обох кремнеземів з гідрофільною поверхнею (А-200, А-300) практично співпадає, що вказує на те, що зміна питомої поверхні ВДК на $100 \text{ м}^2/\text{г}$ суттєво не змінює його БА щодо бичачих сперматозоїдів. Присутність в клітинному середовищі метилкремнезему АМД-0,2

спричинила значне збільшення відсотку рухливих клітин, а також їх енергії, хоча швидкість протягом першої години експерименту частково зменшилась (таб.1). При цьому величина $E_{сум.е.}/E_{сум.к.}$ досягала 1,8 (рис.3).

Оскільки кремнеземи, модифіковані ди- та триметилсілільними групами, при всіх ступенях модифікування є нетоксичними, на відміну від гідрофільного кремнезему, то цей факт свідчить про переваги використання таких кремнеземів в кріосередовищах для репродуктивних клітин. При додаванні АМТ-0,4 до середовища з клітинами виявлено, що він практично не проявляє стимулюючої дії на гамети биків, а швидше навіть пригнічує їх функціонування (рис.3, таб.2). Отже, при більшій ступені гідрофобізації поверхні ВДК, зокрема, коли ступінь заміщення ОН груп становить 0,4 (АМТ-0,4), його присутність в суспензії репродуктивних клітин биків, пригнічує життєздатність останніх.

Таблиця 1.

Відносне збільшення швидкості (V_e/V_k) та проценту рухливих гамет биків (β_e/β_k) під дією метилкремнезему АМД-0,2, в порівнянні з контролем, розраховані для кожної години експерименту

C, % / t, год.	V_e / V_k		β_e / β_k	
	1	2	1	2
0,000002	0,62	0,84	1,59	1,02
0,00001	0,76	1,15	1,34	4,06
0,00004	0,84	1,54	1,60	2,76
0,00015	0,86	2,22	1,78	3,31
0,0006	0,86	2,55	2,21	4,79
0,002	0,90	3,32	1,57	5,53
0,01	0,81	4,44	1,94	5,19
0,04	0,82	5,91	1,53	5,73
0,15	0,65	4,03	1,44	4,67
0,6	0,58	4,20	1,32	4,34

Таблиця 2.

Відносні збільшення швидкості (V_e/V_k) та відсотку рухливих гамет биків (β_e/β_k) під дією метилкремнезему АМТ-0,4, в порівнянні з контролем, розраховані для кожної години експерименту

C, % / t, год.	V_e / V_k					β_e / β_k				
	1	2	3	4	5	1	2	3	4	5
0,000001	0,80	0,06	1,20	0,92	2,16	0,76	0,37	0,37	0,29	0,87
0,000005	0,84	0,97	0,92	1,06	2,52	0,72	0,51	0,33	0,61	1,94
0,00002	0,84	1,07	1,03	1,15	2,04	0,80	0,64	0,45	0,55	1,81
0,000075	0,83	1,02	1,14	1,11	3,06	0,77	0,85	0,36	0,70	2,72
0,0003	0,85	0,98	1,12	0,91	3,50	0,83	0,95	0,34	0,89	2,60
0,00125	0,91	0,97	1,08	0,97	4,51	0,74	0,91	0,51	0,94	3,12
0,005	0,98	0,99	1,22	0,96	7,56	0,75	0,79	0,51	0,84	4,79
0,02	1,08	1,24	1,24	1,15	10,29	0,64	0,75	0,18	0,84	4,68
0,075	1,09	0,89	1,42	1,38	8,37	0,78	0,97	0,17	0,78	3,94
0,3	1,02	0,7	1,23	1,34	8,65	0,62	0,71	0,2	0,79	2,1

З експериментальних даних видно, що для всіх досліджених кремнеземів, оптимальний діапазон концентрацій, який найкраще впливає на життєздатність клітин, співпадає і максимум стимулюючої дії припадає на концентрацію 0,01%.

Цей факт узгоджується з результатами досліджень БА гідрофільного кремнезему А-300 та його похідних, зокрема метилаеросилу, щодо сперматозоїдів биків, які проводились раніше за використанням іншого методу [19]. Автори [19] таку дію кремнеземів пояснювали здатністю ВДК сповільнювати втрату клітинами ряду ферментів, які забезпечують запліднення сперматозоїдами яйцеклітини, одним з яких є гіалуронідаза.

З іншої сторони в роботі [9] було висунуто припущення, що збільшення життєздатності клітин при додаванні до нього кремнезему, та матеріалів на основі нього, пов'язано зі зміною в'язкості клітинного середовища.

Тому в даній роботі було досліджено зміну в'язкості клітинного середовища від концентрації кремнезему в ньому. Результати, представлені в таб. 3, показали, що з додавання ВДК в'язкість клітинного середовища збільшується, але таке мале збільшення, не може суттєво вплинути на рух клітин.

Таблиця 3.

В'язкість клітинного середовища з додаванням ВДК. η_0 – в'язкість клітинного середовища без кремнезему

Концентрація кремнезему С, %	В'язкість η , мм ² /с	Відносна в'язкість η/η_0
0,0000	0,019483	1,00000
0,0004	0,019484	1,000100
0,0006	0,019614	1,006765
0,0100	0,019650	1,008598

При цьому не слід виключати й інші можливі пояснення, зокрема, існує можливість того, що при певній концентрації ВДК його розвинута поверхня структурує водну фазу суспензії, полегшуючи рух клітин, які ніби скочують вздовж приповерхневих шарів середовища, що було виявлено в [20], коли при кутах розсіяння 90°, 60°, 30°, 15° досліджували рух бактерій *Proteus mirabilis* в присутності ентеросорбенту «СілардП». Таким чином, повне з'ясування природи збільшення активності клітин під дією кремнеземів потребує додаткових досліджень.

г) *Дослідження кремнеземів, модифікованих ди- та триметилсілільними групами з адсорбованим на поверхні сорбітом.* При додаванні АМД-0,2, модифікованого сорбітом, до середовища з сперматозоїдами не привело до суттєвої зміни відсотку рухливих клітин та їх трансляційної швидкості порівняно з дією АМД-0,2, при цьому і сумарна енергія майже не змінилися (рис.4а).

Порівняння впливу на сперматозоїди вихідного кремнезему АМТ-0,4 та АМТ-0,4, модифікованого сорбітом, показало, що у другому випадку за рахунок зменшення швидкості і збільшення проценту рухливих

клітин сумарна енергія клітин в присутності цього матеріалу не змінилась в порівнянні з АМТ-0,4 (рис. 4б).

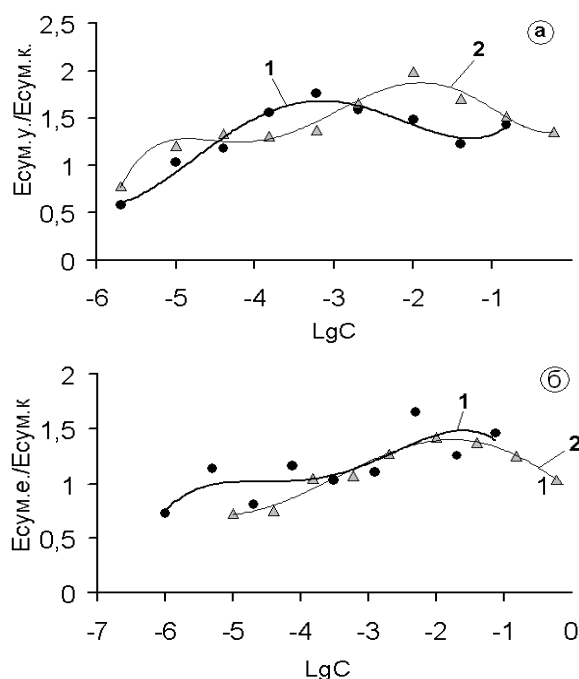


Рис. 4. Залежність відношення $E_{\text{сум.е.}}/E_{\text{сум.к.}}$ від концентрації препарату в середовищі із деконсервованою спермою бика. $E_{\text{сум.е.}}/E_{\text{сум.к.}}$. (1 - для кремнеземів АМД-0,2 (а), АМТ-0,4 (б), 2 - для цих же кремнеземів, модифікованих сорбітом

Таким чином, адсорбція сорбіту на кремнеземах, попередньо модифікованих три- та диметилсілільними групами, практично не змінює їх БА стосовно бичачих сперматозоїдів.

ВИСНОВКИ

За допомогою методу фотон-кореляційної спектроскопії, було досліджено біологічну активність кремнеземів, з гідрофільною поверхнею, та метил кремнеземів відносно гамет биків. Встановлено, що додавання до середовища з деконсервованою спермою биків гідрофільних кремнеземів, збільшує життєздатність останніх. При цьому зміна питомої поверхні ВДК від 200 до 300 м²/г майже не змінює його БА щодо гамет биків.

Виявлено, що гідрофобізація поверхні кремнезему шляхом модифікування його поверхні ди- та триметилсілільними групами з невисокою ступінню заміщення ОН груп практично не зменшує його БА відносно сперматозоїдів биків. ВДК, з високою ступінню модифікації, зокрема, АМТ-0,4, частково пригнічують життєздатність бичачих сперматозоїдів.

Додавання до клітинного середовища кремнезему з малою ступінню гідрофобізації, з адсорбованим на поверхні сорбітом, підвищує активність репродуктивних клітин порівняно з контрольним середовищем. БА метилкремнеземів, модифікованих сорбітом, відносно гамет биків практично не змінюється в порівнянні з БА вихідних метилкремнеземів.

Література

- Недава В.Е., Смирнова О.І., Журавель М.П., Галаган Н.П., Богомаз В.І., Чуйко А.А., Синельник А.П., Михнюк В.П. Об использовании высокодисперсных кремнеземов в средах для замораживания спермы баранов // Сельскохозяйственная биология. – 1992. – №4. – С.20-25.
- Медицинская химия и клиническое применение диоксида кремния / Под. ред. А.А. Чуйко. – К.: Наукова думка, 2003. – С.161-167.
- Лысенко Л.В., Чуешов В.И., Лаврушина Т.Т. Сравнительная токсичность модифицированных образцов аэросила // Фармация.–1977.– 26, №1. – С.56–58.
- Галаган Н.П., Синельник О.И., Богомаз В.И. Кремнеземы, модифицированные углеводами – перспективные препараты для криоконсервации спермы баранов // Тез.докл. IV Всесоюз. конф. «Биологическая активность соединений кремния, германия, олова.» - Иркутск. – 1990. – 67с.
- Matsuda Yumiko Влияние сорбита на денатурацию мяса карпа сублимационной сушки при хранении // NipponSuisanSatogakkaishi, Bull. Jap. Soc. Sci. Fish. - 1979. – Vol. 45, №5. – P.581 – 584.
- Протозанова Л.А., Еськов А.П., Семенова Н.В. и др. Оценка действия химических соединений на сперматозоиды методом спектроскопии и оптического смешения // Актуальные проблемы оценки фармакологической активности химических соединений: Тез.докл. Всесоюз. конф. М., - 1981. - Ч.2. - С.140-141.
- Vlasenko V.V., Galagan N.P., Kulik T.V., Pokrovskiy V.A. Studies on adsorption of carbohydrates on ultrafine silica surface by means of mass spectrometry and laser Doppler spectrometry // VII Polish Ukrainian Symposium on Theoretical and Experimental Studies of Interfacial Phenomena and their Technological Application (Lublin – Poland, September, 15-18, 2003): Program and Proceeding – Lublin, 2003. - P.312.
- Галаган Н.П., Настасієнко Н.С., Грищенко І.В., Чмільов М.В., Власенко В.В. Дослідження нанокompatивів на основі високодисперсного кремнезему, модифікованого поліолами та бічачим сироватковим альбуміном. / В зб. наук. пр. “Нанофізика, наносистеми, наноматеріали”. – К.: Академперіодика, 2004. – Т.2, вип.2. – С.597 – 608.
- Галаган Н.П., Власенко В.В., Настасієнко Н.С., Чуйко О.О. Дослідження впливу високодисперсного кремнезему, модифікованого поліолами, на життєдіяльність репродуктивних клітин методом фотон-кореляційної спектроскопії // Вісн. Харк. ун-ту (Біофізичний вісник Вип.1. (15)). – 2005. – № 665. – С.94 – 99.
- Тертых В.А., Белякова Л.А. Химические реакции с участием поверхности кремнезема. – Киев: Наукова Думка, 1991. – 264с.
- Настасієнко Н.С., Місчанчук Б.Г., Галаган Н.П. Мас-спектрометричне дослідження термолізу сорбіту та ксиліту. В зб. Хімія, фізика та технологія поверхні: Між відзб. наук. пр. / Ін-т хімії поверхні НАН України. Під ред. О.О. Чуйко- К.: Вид. дім «КМ Академія», 2004. – вип.10. – С.198 – 201.
- Волюцкий С.С., Панич Р.М. Практикум по коллоидной химии и электронной микроскопии. М: Химия, 1974. – 224с.
- Власенко В.В. Дослідження фоточутливості одноклітинних рухливих мікроводоростей методом доплерівської спектроскопії // Доповіді НАНУ.- 2004. - №4. - С.159–164.
- Craig T., Hallet R.F. Half-Width Scaling of Electric Field Autocorrelation Functions of Light Scattered from Bull Spermatozoa // Biophysical Journal.– 1982.– 38.– P.71 – 78.
- Власенко В.В. Исследование вращательно поступательного движения сперматозоидов методом доплеровской спектроскопии: Автореф. дис. ... канд. биол. наук. – Киев, 1990. – 20с.
- Dufrenne N.G., Blitz J.P., Meverden C.C. // Microchem. J. – 1997. – 55. – P.192-199.
- Адсорбция из растворов на поверхностях твердых тел. Пер.с англ. / Под. Ред. Г. Парфита, К. Рочестера. – М.: Мир, 1986. – 488с.
- Klofutar Cveto, Paljk Spela, Goldon Andrzej A Volumetric Study of Aqueous Solution of D-Mannitol and D – Sorbitol // Physiol. Chem. And Phus. And Med. NMR. – 1993. – Vol 25, № 1. – С. 1 – 10.
- Недава В.Е., Чуйко А.А., Бегма Л.А. и др. Использование аэросилов в практике искусственного осеменения // Зоотехния. – 1990. - №8. – С.63 – 65.
- Миронюк И.Ф., Мостовая А.В., Гречко Л.Г. Динамика бактерий *Proteus mirabilis* в водной фазе в присутствии энтеросорбента // Доповіді НАНУ. - 2000. - №5.- С.177–178.

ИССЛЕДОВАНИЕ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ КРЕМНЕЗЕМОВ, МОДИФИЦИРОВАННЫХ ДИ- И ТРИМЕТИЛСИЛИЛЬНЫМИ ГРУППАМИ, А ТАКЖЕ СОРБИТОМ, ПО ОТНОШЕНИЮ К БЫЧЬИМ СПЕРМАТОЗОИДАМ МЕТОДОМ ФОТОН-КОРЕЛЯЦИОННОЙ СПЕКТРОСКОПИИ

Настасієнко Н.С., Кузема П.О., Галаган Н. П., Покровський В.А.

Сорбит адсорбирован на поверхности высокодисперсных кремнеземов, ранее модифицированных ди-, и триметилсилильными группами. Биологическую активность модифицированных кремнеземов относительно гамет быков изучали методом фотон-корреляционной спектроскопии, анализируя параметры движения клеток. Добавление гидрофильных кремнеземов А-300 и А-200 к средам с клетками увеличивает их жизнеспособность. Биологическая активность частично гидрофобных метилкремнеземов почти не отличается от гидрофильных, за исключением кремнеземов с большой степенью замещения поверхностных гидроксильных групп. Адсорбция сорбита на поверхности частично гидрофобных кремнеземов существенно не меняет их биологической активности относительно бычьих сперматозоидов.

Ключевые слова: кремнезем, метилкремнезем, сорбит, адсорбция, биологическая активность, бычьи сперматозоиды

THE STUDY OF BIOLOGICAL ACTIVITY OF SILICA, MODIFIED BY DI- AND TRIMETHYLSILYL GROUPS AND SORBITOL, WITH RESPECT TO BOVINE SPERMATOZOIDS BY MEANS OF PHOTON-CORRELATION SPECTROSCOPY

Nastasienko N. S., Kuzema P. O., Galagan N. P., Pokrovskiy V. A.

Sorbitol was adsorbed on ultrafine silica modified by di- and trimethylsilyl groups. Biological activity of modified silica was studied with respect to bovine gametes by means of photon-correlation spectroscopy, by estimate of cells motion parameters. Addition of hydrophilic silicas A-300 and A-200 to cell containing medium increased their vitality. Biological activity of partly hydrophobic methylsilica almost did not differ from hydrophilic one, except for silicas with high degree displacement of surface hydroxyls. Adsorption of sorbitol on the surface of partly hydrophobic silica did not change essentially the biological activity with respect to bovine spermatozooids.

Key words: silica, methylsilica, sorbitol, adsorption, biological activity, bovine spermatozooids
