

УДК 675.041; 675.024.7

РОСЛИННЕ ДУБЛЕННЯ. ВЗАЄМОДІЯ ТАНІДІВ З КОЛАГЕНОМ ДЕРМИ

В.П. ПЛАВАН

Київський національний університет технологій та дизайну

Результати квантово-хімічних розрахунків використано для з'ясування механізму рослинного дублення. Квантово-хімічними розрахунками з урахуванням просторових факторів підтверджено, що у випадку взаємодії між аміно- та гуанідиноними групами бічних ланцюгів аргініну й гідроксильними групами конденсованих танідів за допомогою водневих зв'язків можуть утворитися достатньо міцні шестичленні цикли. Розраховано довжину водневих зв'язків, з яких складається шестичленний цикл, що не суперечать відомим даним

Відмінності у будові конденсованих і танідів а також таких, що гідролізуються і не можуть не позначатися на їх властивостях. Гідролізовані таніди, як правило, здатні підвищувати температуру зварювання колагену до 75–80 °С, конденсовані – до 80–85 °С. На відміну від гідролізованих танідів, які відносно стійкі до дії світла, конденсовані таніди під дією світла помітно червоніють [1].

Розчини танідів різної природи демонструють різну антимікробну активність [2]. Основні мономерні складові танідів за їх здатністю уповільнювати розвиток таких патогенних мікроорганізмів і бактерій як *Escherichia coli*, *Klebsiella pneumoniae*, *Staphylococcus aureus*, можна розташувати в такий ряд: катехіни > елаготаніни ≥ епікатехіни ≥ галотаніни. За своєю антиоксидантною активністю рослинні дубителі можливо розташувати в такий ряд: сумах > тара > каштан > міраболан > квебрахо > мімоза [3]. Тобто, вищу антиоксидантну активність виявляють таніди, що гідролізуються, ніж ті, що конденсуються. Такі властивості танідів можуть бути корисними у виробництві шкір тривалої експлуатації чи зберігання, наприклад, ортопедичних або тих шкір, які призначені для реставрації об'єктів історичної спадщини.

Об'єкти та методи дослідження

Об'єкт дослідження – процес взаємодії між функціональними групами танідів різних класів і колагену дерми під час комбінованого дублення.

Для моделювання взаємодії з колагеном дерми танідів різних класів при комбінованому дубленні застосували напівемпіричний метод МО ЛКАО в наближенні РМЗ з використанням комп'ютерної системи МОРАС Як основний критерій для кількісної оцінки міцності зв'язку, як у молекулах танідів так і між частками танідів і колагеном, було використано силові константи $k_0(A-B)$ – другі похідні повної енергії системи по довжині валентного зв'язку $r_0(A-B)$ [4].

Для дослідження природи взаємодії танідів з колагеном використали метод інфрачервоної спектроскопії. Як модель колагену використали желатинові плівки товщиною 0,1 мм. Для отримання плівки в 4%-вий оцтовокислий розчин желатину за температури 35°C вводили екстракт рослинних дубителів з концентрацією 50 г/л. Витрата танідів становила 10% від маси колагену. Отриманий розчин виливали на спеціальну тефлонову підкладку й залишали для висихання при звичайній температурі. ІЧ-спектроскопічні дослідження проводили на універсальному Фур'є-ІЧ-спектрометрі TENSOR-37 (BRUKER, Німеччина). ІЧ-спектри поглинання вивчали в ділянці частот 400...4000 cm^{-1} (рис. 2). Інтерпретацію спектрів здійснювали з використанням таблиць характеристичних частот поглинання різних груп атомів та літературних джерел [5, 6].

Постановка завдання

Мета дослідження – визначення впливу природи рослинних дубителів на їх взаємодію з колагеном дерми для прогнозування і вибору оптимального варіанта комбінованого органічно-мінерального дублення для отримання шкір із заданими властивостями.

Результати та їх обговорення

Раніше було доведено [7], що нерівномірний розподіл електронної щільності між атомами призводить до поляризації молекули та створення молекулярного електростатичного поля навколо молекули танідів. Спочатку виникає електростатичне притягування між молекулами танідів і функціональними групами колагену дерми, а потім утворюються зв'язки, у тому числі і водневі.

Отримані в ході квантово-хімічних розрахунків результати були використані для з'ясування механізму комбінованого органічно-мінерального дублення. Відомо, що для виникнення електростатичного притягання між фенольними гідроксильними групами танідів і пептидними групами колагену, відстань між ними повинна бути не більше 5 Å [8]. Міцність водневого зв'язку залежить від відстані між атомами. При цьому із зменшенням відстані від 3 до 2,3 Å енергія зв'язку зростає від 21–29 до 120–250 кДж/моль [9]. Встановлено, що на відстані між атомами в 3,0–4,0 Å, між дубителями й колагеном утвориться одиночний водневий зв'язок [10], а на відстані між атомами в 2,5–3,0 Å, атом кисню колагену, вочевидь, утворить розгалужений водневий зв'язок «виделкового» типу [11, 12] із двома ОН-групами танідів мімози або квебрахо. За результатами квантово-хімічного розрахунку можна зробити висновок про те, що таніди тари також здатні утворювати як одиночні так і «виделкові» водневі зв'язки з молекулами колагену. На рис. 1 пунктиром показано розраховану відстань між атомами, Å, які утворюють водневий зв'язок, для фрагментів танідів квебрахо і тари. Отримані результати не суперечать даним про довжину водневого зв'язку $r(\text{H}\dots\text{O}) \approx 1,7 \text{ Å}$, $r(\text{O}-\text{H}\dots\text{O}) \approx 2,7-2,8 \text{ Å}$, наведеним в роботі [9].

Відповідно до сучасних уявлень про водневий зв'язок, енергія водневого зв'язку складається із трьох складових: енергія електростатичної взаємодії, енергія поляризації і переносу заряду та енергія відштовхування. На більшій відстані переважає енергія електростатичної взаємодії, а при меншій відстані з'являється поляризація і, як наслідок, перенос заряду, що сприяє притягання атомів та, нарешті, відштовхування. Рівновага між притяганням і відштовхуванням визначає рівноважну відстань між атомами у зв'язку. Підтвердженням переносу заряду внаслідок поляризації можуть бути результати розрахунку зарядів на атомах кисню і водню гідроксильних груп танідів тари, залучених до утворення водневого зв'язку (табл. 1). Внаслідок участі атомів кисню й водню гідроксильних груп танідів тари в утворенні

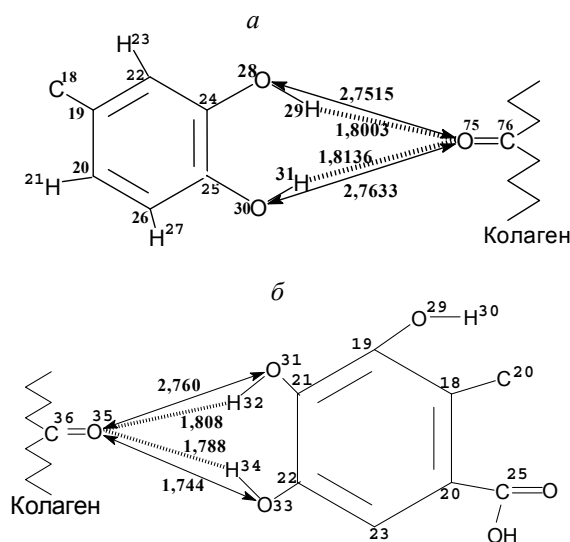


Рис. 1. Схема утворення розгалужених водневих зв'язків між двома ОН-групами танідів квебрахо (а) або тари (б) і киснем пептидних груп колагену

водневих зв'язків спостерігається деяке підвищення позитивних зарядів на атомах водню, напроти, заряди на атомах кисню стають більш негативними. Перенос електронів та їх делокалізація сприяють зміцненню водневого зв'язку.

Таблиця 1. Заряди атомів гідроксильних груп танідів тари

№ (рис. 1б)	Атом	Заряд атома q(A)	
		вихідного	такого, що бере участь в утворенні водневого зв'язку
31	O	-0.1895	-0,228
32	H	0.2077	0,226
33	O	-0.2348	-0,263
34	H	0.2118	0,236

Для того щоб підтвердити або спростувати результати, що були отримані шляхом квантово-хімічних розрахунків, досліджували взаємодію танідів з колагеном методом інфрачервоної спектроскопії. На рис. 2 показано ІЧ-спектри желатину, обробленого танідами мімози і тари та необробленого. При порівнянні ІЧ спектрів желатину, обробленого танідами мімози і вихідного можна спостерігати збільшення інтенсивності смуг поглинання при 3300, 1640 і 1240 cm^{-1} , а також появу смуг середньої інтенсивності з максимумами при 1160, 970 і 840 cm^{-1} . Такі зміни відображають взаємодію між функціональними групами рослинних дубителів і колагену. Широка смуга поглинання у низькочастотній ділянці з максимумами при 840, 640 і 600 cm^{-1} відповідає не плоским деформаційним коливанням зв'язку С-Н бензольних кілець з різною кількістю суміжних атомів водню. Слабка смуга поглинання при 970 cm^{-1} відповідає плоским деформаційним коливанням зв'язку С-Н бензольного кільця.

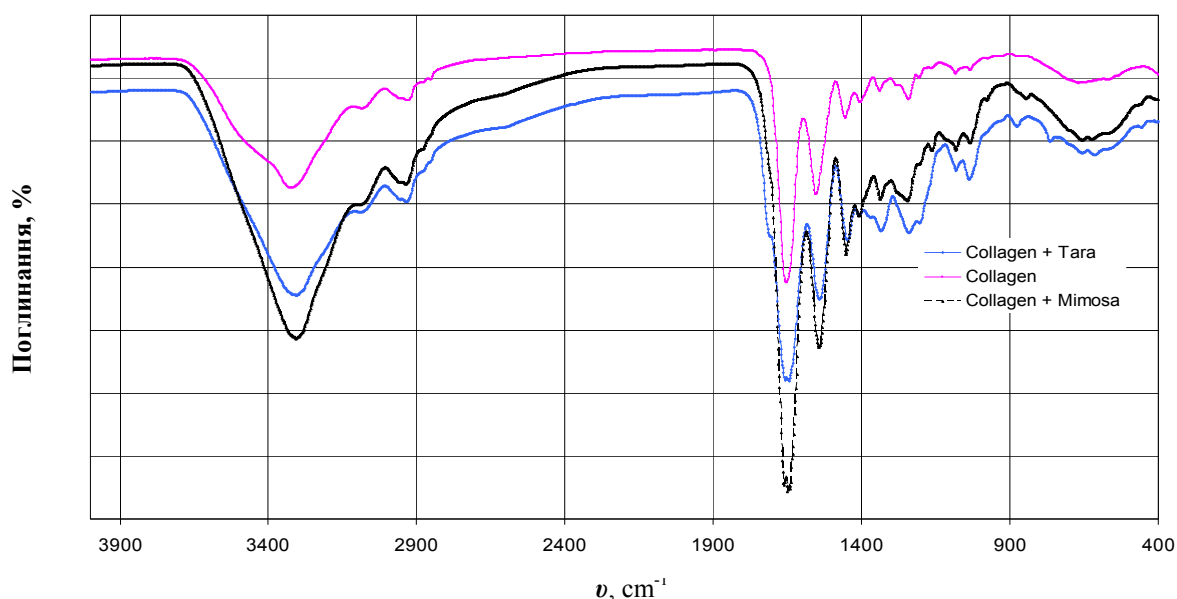


Рис. 2. ІЧ-спектри колагену до та після
обробки танідами мімози і тари

Карбоксильні групи колагену скоріш за все не вступають у реакцію – смуги поглинання 1440 та 1400 cm^{-1} залишаються без змін.

Рослинні дубителі мімоза і тари відрізняються за хімічною будовою. На відміну від танідів мімози, таніди тари містять у своїй структурі карбоксильні групи. Як видно з рис. 2, відмінності у спектрах танідів спостерігаються у низькочастотній ділянці (1500-600 cm^{-1}). У спектрі колагену, обробленого танідами тари, з'явилися чітко виражені смуги: 1 з частотою коливань 1360 cm^{-1} (обертон на

частоті 1700 см^{-1}), яка напевно відповідає водневому зв'язку між плоскими деформаційними коливаннями групи $-\text{OH}$ і валентними коливаннями групи CO ($1300\text{--}1200\text{ см}^{-1}$), причому зсув в ділянку високих частот може бути викликаний більшою силою водневих зв'язків та смуга 2 з частотою коливань $1230\text{--}1200\text{ см}^{-1}$, яка може відповідати асиметричним валентним коливанням $=\text{C}-\text{O}-$ в ароматичних сполуках, або валентним коливанням зв'язку $\text{C}-\text{O}(\text{H})$. У спектрі поглинання колагену, обробленого танідами тари з'явилась смуга з частотою 770 см^{-1} , яка характерна для не плоских деформаційних коливань групи $\text{C}-\text{H}$ бензольного кільця, що містить чотири-п'ять суміжних атомів водню. А смуга поглинання 970 см^{-1} , яка присутня в спектрі колагену, обробленого танідами мімози, і відповідає плоским деформаційним коливанням зв'язку $\text{C}-\text{H}$ бензольного кільця зникла. Крім того у спектрі колагену, обробленого танідами тари, відсутня смуга поглинання з частотою 1160 см^{-1} , на відміну від колагену, обробленого танідами мімози.

Таким чином, можна зробити висновок, що взаємодія рослинного дубителя пірокатехінового класу мімоза, відбувається за допомогою водневих зв'язків між гідроксильними групами фенольного характеру танідів і аміно- чи пептидними групами колагену дерми. Взаємодія танідів тари, що відносяться до пірогалолового класу, відбувається як за допомогою водневих зв'язків між гідроксильними групами фенольного характеру танідів і аміно- чи пептидними групами колагену дерми так і шляхом встановлення координаційних зв'язків за участю карбоксильних груп танідів.

Виходячи із просторових міркувань, можемо дійти висновку, що найдоступнішими для взаємодії з танідами є функціональні групи бічних ланцюгів білка. В умовах рослинного дублення, яке відбувається у слабо кислому середовищі ($\text{pH } 4,5\text{--}5,0$), аміногрупи лізіну й гуанідинова група аргініну повністю іонізовані й тому найкращі для взаємодії [13].

Квантово-хімічними розрахунками підтверджено, що внаслідок приєднання протону водню до азоту аміногрупи, позитивний заряд атому азоту N^2 збільшується на +1 (за допомогою верхнього індексу показана нумерація атомів згідно рис. 3). В процесі утворення зв'язку N^2-H^{47} на $1s$ атомну орбіталь протону водню зміщується значної величини електронна щільність з валентних $2s$ - та $2p$ - атомних орбіталей атома азоту N^2 . Внаслідок утворення нового зв'язку N^2-H^{47} координаційне число атома азоту аміногрупи збільшується до 4-х, а його валентна оболонка переходить у стан sp^3 гібридизації і набуває тетраедричної форми. При цьому електронна щільність на атомі азоту аміногрупи знижується з 4,941 до 4,208, а позитивний заряд збільшується з 0,059 до 0,792 (табл.2).

З підвищенням координаційного числа атома азоту аміногрупи та перерозподілом електронної щільності між атомами, повний порядок зв'язку $\text{P}(\text{C}^1-\text{N}^2)$ і порядок π -зв'язку в іонізованій аміногрупі аргініну знижуються, що спричинює дестабілізацію зв'язку C^1-N^2 , підтвердженням чого є зниження силової константи $k_0(\text{C}^1-\text{N}^2)$ на 44% і збільшення довжини зв'язку на 6%. Крім цього, внаслідок перерозподілу електронної щільності на атомі азоту N^2 між більшою кількістю атомів водню, відбувається дестабілізація внутрішньо молекулярних зв'язків N^2-H^4 , N^2-H^{47} , N^2-H^7 , що проявляється в зниженні порядку зв'язків, силових констант та в збільшенні довжини цих зв'язків. Це, в свою чергу, сприятиме підвищенню активності атомів водню іонізованої аміногрупи до міжмолекулярних взаємодій.

У результаті іонізації аргініну зміни відбуваються і в гуанідиновій групі. Особливості електронної будови аміно- та гуанідинової груп аргініну визначалися на підставі розрахунку порядку π -зв'язків. Було враховано, що чим вище порядок π -зв'язку, тим вища його реакційна здатність [9]. На атомі

азоту гуанідинової групи спостерігається значної величини π -заряд, що майже у 5 разів вищий, ніж π -заряд на атомі азоту аміногрупи. Після іонізації кислотного залишку аргініну π -заряд на атомі азоту гуанідинової групи значно збільшується, на відміну від π -заряду атома азоту аміногрупи, який значно зменшується. Електронна щільність на атомі азоту гуанідинової групи знижується з 5,229 до 5,064 (табл.2). В результаті перерозподілу електронної щільності між атомами, повний порядок зв'язку $P(C^1-N^5)$ і порядок π -зв'язку у гуанідиновій групі аргініну підвищується на 10,8 і 23,4 %, відповідно. Зв'язок C^1-N^5 в гуанідиновій групі має вищий порядок π -зв'язку $P\pi(C^1-N^5)=1,029$, а отже й вищу реакційну здатність, ніж π -зв'язок аміногрупи $P\pi(C^1-N^2)=0,018$. Величини порядків π -зв'язків тісно корелюють із величинами силових констант зв'язків. Підвищення силової константи $k_0(C^1-N^5)$ з 5,122 до 5,743 мдин/Å, тобто на 12 % і зменшення довжини зв'язку C^1-N^5 свідчить про зміцнення. Зв'язок між атомами азоту і водню N^5-H^6 гуанідинової групи послаблюється, що проявляється в зменшенні силової константи на 37% та в збільшенні довжини зв'язку майже на 6 %. Це, в свою чергу, сприятиме активності атому азоту гуанідинової групи іонізованого аргініну до міжмолекулярних взаємодій.

Таблиця 2 – Заряди на атомах молекул аргініну та танідів мімози, що беруть участь у взаємодії

Атом	До іонізації			Після іонізації			Після взаємодії		
	q(A)	q π (A)	Електронна щільність	q(A)	q π (A)	Електронна щільність	q(A)	q π (A)	Електронна щільність
C1	-0,097	1,099	4,097	-0,263	1,161	4,263	-0,247	1,133	4,247
N2	+0,059	0,183	4,941	+0,792	0,033	4,208	+0,746	0,034	4,254
N3	+0,008	0,239	4,992	-0,119	0,167	5,119	-0,016	0,257	5,104
H4	+0,057	–	0,943	+0,013	–	0,987	+0,086	–	0,914
N5	-0,229	1,018	5,229	-0,064	1,135	5,064	-0,146	1,119	5,146
H6	+0,079	–	0,921	+0,242	–	0,758	+0,244	–	0,756
H7	+0,027	–	0,973	+0,012	–	0,988	+0,010	–	0,989
C8	-0,084	0,063	4,084	-0,049	0,063	4,059	-0,045	0,064	4,045
H47	–	–	–	+0,045	–	0,956	+0,022	–	0,978
O48	–	–	–	-0,222	0,205	6,222	-0,305	0,197	6,305
H49	–	–	–	+0,219	–	0,7804	+0,258	–	0,742

Квантово-хімічними розрахунками підтверджено, що у випадку взаємодії між бічними ланцюгами аргініну й гідроксильними групами конденсованих танідів за допомогою водневих зв'язків утворюються достатньо міцні шестичленні цикли. На рис. 3 показана ймовірна схема утворення шестичленних циклів за участю атомів азоту аміно- та гуанідинової груп за допомогою водневих зв'язків $N^2-H^4-O^{48}$ та $N^5-H^{49}-O^{48}$, відповідно. Показано, що утворення водневих зв'язків супроводжується зниженням силової константи зв'язку N^2-H^4 на 18% і підвищенням силових констант зв'язків N^2-H^7 , N^2-H^{47} , N^5-H^6 на 2-3% (рис. 3).

Із даних табл.2 видно, що в результаті взаємодії відбувається зниження величини заряду на атомі азоту аміногрупи та збільшення величини заряду на атомі азоту гуанідинової групи. Результати розрахунку зарядів на атомах кисню та водню гідроксильної груп танідів мімози (табл. 1) та атомів водню аміногрупи і азоту гуанідинової групи аргініну, що були залучені до утворення водневого зв'язку,

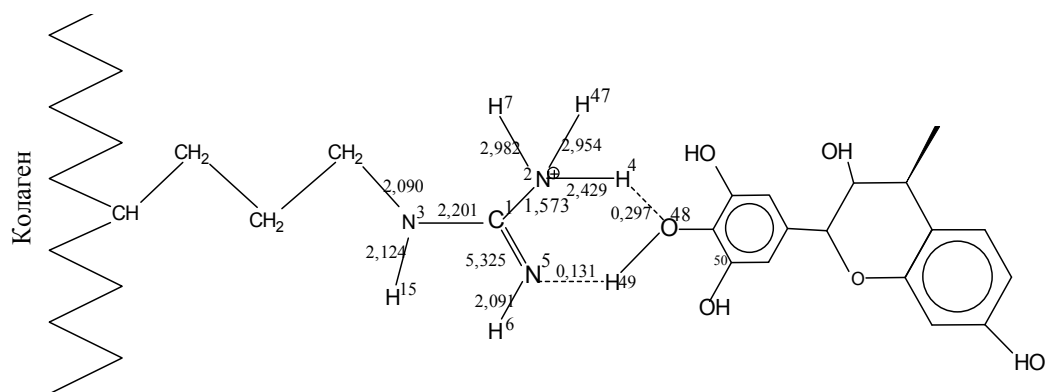


Рис. 3. Ймовірна схема взаємодії між бічними ланцюгами аргініну й гідроксильними групами танідів мімози з розрахованими силовими константами

являються підтвердженням переносу заряду внаслідок поляризації. В результаті утворення водневих зв'язків спостерігається підвищення позитивних зарядів на атомах водню, напроти, заряди на атомах кисню і азоту стають більш негативними. Перенос електронів та їх делокалізація сприяють зміцненню водневих зв'язків.

Таким чином, внаслідок іонізації аргініну збільшується його поляризація і молекулярне електростатичне поле, що сприятиме зближенню залишків аргініну і молекул рослинних дубителів на відстані, достатні для утворення водневих зв'язків. Розраховано довжину водневих зв'язків, з яких складається шестичленний цикл, Å, становить $r(\text{H}^4\text{---O}^{48}) = 1,794$; $r(\text{N}^5\text{---H}^{49}) = 1,888$; $r(\text{N}^2\text{---H}^4\text{---O}^{48}) = 2,706$; $r(\text{N}^5\text{---H}^{49}\text{---O}^{48}) = 2,548$, що не суперечить даним про довжину водневого зв'язку, які було наведено у роботі [9].

Висновки

1. Квантово-хімічними розрахунками встановлено, що між функціональними групами колагену й дубителя ймовірно можуть утворюватися розгалужені водневі зв'язки «виделкового» типу, у яких атом кисню пептидної групи колагену утворює зв'язок із двома OH- групами дубителя, а також звичайний водневий зв'язок, у якому атом кисню пептидної групи колагену утворить зв'язок з однією OH- групою рослинного дубителя.
2. Методом ІЧ-спектроскопії підтверджено, що взаємодія рослинного дубителя пірокатехінового класу мімоза відбувається за допомогою водневих зв'язків між гідроксильними групами фенольного характеру танідів і аміно- чи пептидними групами колагену дерми. Взаємодія танідів тари, що відносяться до пірогалолового класу, відбувається за допомогою водневих зв'язків між гідроксильними групами фенольного характеру танідів і аміно- чи пептидними групами колагену дерми і шляхом встановлення координаційних зв'язків за участю карбоксильних груп танідів.
3. Квантово-хімічними розрахунками з урахуванням просторових факторів показано, що у випадку взаємодії між аміно- та гуанідиновими групами бічних ланцюгів аргініну й гідроксильними групами конденсованих танідів за допомогою водневих зв'язків можуть утворюватися достатньо міцні шестичленні цикли.

Результати розрахунку довжини водневих зв'язків, з яких складається шестичленний цикл, не суперечать відомим даним про довжину водневого зв'язку.

ЛІТЕРАТУРА

1. Covington A.D. Modern tanning chemistry. *Chemical Society Reviews*, – 1997, p. 111–126.
2. Min B.R., Pinchak W.E., Markel R., Walker S., Tomita G., Anderson R.C. Comparative antimicrobial activity of tannin extracts from perennial plants on mastitis pathogens. *Scientific Research and Essay*, – 2008, Vol. 3 (2), p. 66–73.
3. Antiradical Efficiency of Different Vegetable Tannin Extracts/ A. Zalacain, M. Carmona, C. Lorenzo, I. Blazquez, G.L. Alonzo// *Journal of American Leather Chemists Association*, – 2002, Vol. 97 (2), p. 137–142.
4. Пиментел Г., Спратли Р. Как квантовая механика объясняет химическую связь. – М.: Мир. 1973. – с. 88–191.
5. Наканиси К. Инфракрасные спектры и строение органических соединений. – М.: Мир. – 1965. – 216 с.
6. Индикуманда Д., Данилкович А.Г. Взаимодействие таннидов коры черной акации Валлис с коллагеном // *Изв. вузов. Технол. лег. пром.* – 1988. – №5. – с. 66–69.
7. Плаван В.П., Каташинський А.С. Застосування квантово-хімічного моделювання для дослідження хімічної будови танідів // *Вісник КНУТД*. – 2006. – №6. – с. 77–83.
8. Михайлов А.Н. Химия дубящих веществ и процессов дубления. – М: Гизлегпром. – 1953. – с. 397–626.
9. Краснов К.С. Молекулы и химическая связь. – М.: Высшая школа, – 1977. – 280 с.
10. V.P. Plavan, A. Katashinsky, Barsukov V. Quantum-chemical modeling for interaction of collagen with structure-forming agents // *Scientific Proceedings of Riga Technical University*. – 2007. – p. 121–131.
11. Луцкий А.Е., Корунова А.Ф., Исламов Р.Г., Ветров В.А. Расчет комплексов с Н-связью с участием протоакцепторов, содержащих группы SO и SO₂. Теоретическая и экспериментальная химия, 1980, том 26, № 1. – с. 88–93.
12. Погорелый В.К., Горлов Ю.И. Изучение водородной связи в комплексах воды с сероводородом методом ППДП2 // *Журнал структурной химии*, – 1978,– № 3. т.19, – с. 405–411.
13. Heidemann E. *Fundamentals of leather manufacture/ Eckhart Heidemann*. – Darmstadt: Eduard Roether KG, – 1993. – 468 с.

Надійшла 14.05.2010