
**ПРИКЛАДНАЯ
МИНЕРАЛОГИЯ**

УДК 548.736.65:577.112.7

**ЦЕОЛИТЫ ТАТАРСКО-ШАТРАШАНСКОГО МЕСТОРОЖДЕНИЯ
КАК НОСИТЕЛИ МОДЕЛЬНОГО АЛЬБУМИНА ДЛЯ ПЕРСПЕКТИВНОЙ
АДСОРБЦИИ ТЕРАПЕВТИЧЕСКИХ БЕЛКОВ****© 2022 г. Р. Р. Исламова^{1, *}, Г. Ю. Яковлева^{2, **}, А. Н. Тюрин^{3, ***},
О. Н. Ильинская^{2, ****}, О. Н. Лопатин^{1, *****}**¹*Институт геологии и нефтегазовых технологий, Казанский (Приволжский)
федеральный университет, ул. Кремлевская, 4/5, Казань, 420008 Россия*²*Институт фундаментальной медицины и биологии, Казанский (Приволжский)
федеральный университет, ул. Кремлевская, 18, Казань, 420008 Россия*³*Татарское геологоразведочное управление ПАО “Татнефть”,
ул. Журналистов, 60, Казань, 420053 Россия***e-mail: geology.isl@mail.ru****e-mail: Yakovleva_Galina@mail.ru*****e-mail: TurinAN@tatneft.ru******e-mail: Olga.Ilinskaya@kpfu.ru*******e-mail: Oleg.Lopatin@kpfu.ru*

Поступила в редакцию 18.07.2021 г.

После доработки 29.09.2021 г.

Принята к публикации 09.12.2021 г.

Цеолиты являются природными адсорбентами, способными к ионообмену. В данной работе изучен цеолит – клиноптилолит из Татарско-Шатрашанского месторождения республики Татарстан как возможный носитель терапевтических белков. Открытое в 90-х годах Татарско-Шатрашанское месторождение Дрожжановского района Республики Татарстан расположено в центральной части европейской части РФ. Район характеризуется развитой инфраструктурой, месторождение – значительными запасами цеолитов, представленных клиноптилолитом. Ранее проведенные исследования по сравнению токсичности цеолитов – натролита, шабазита и клиноптилолита показали, что последний обладает наименьшей токсичностью и характеризуется наиболее сильной адсорбционной способностью и ионно-обменными свойствами. Исследованные образцы, взятые из наиболее продуктивной пачки месторождения, использовались в виде порошка и гранул. В качестве адсорбата применялся модельный белок – сывороточный бычий альбумин. В статье проанализирована возможность исследованных цеолитсодержащих пород быть носителями анионного альбумина, представлены результаты загрузки/выгрузки альбумина, выхода остаточных органических веществ из образцов цеолитсодержащих пород и измерена адсорбционная емкость, выявившая оптимальный образец, обладавший наибольшей пористостью.

Ключевые слова: адсорбционная способность, катионный обмен, цеолиты, цеолитсодержащие породы, клиноптилолит, Татарско-Шатрашанское месторождение, терапевтические белки, альбумин

DOI: 10.31857/S0869605522010063

Гидратированные алюмосиликаты щелочноземельных элементов – цеолиты (Si, Al) O₄⁻, обладают отрицательно заряженной открытой каркасно-пористой структурой. Ней-

трализация отрицательного заряда происходит содержащимися в цеолите катионами (Na, K, Mg, Ca), способными к ионному обмену. Система каналов и полостей в цеолитах, называемых “окнами”, размером 2–15 Å, позволяет этим минералам также сорбировать разнообразные вещества, что находит широкое применение при очистке вод, газов, продуктов органического синтеза, продуктов радионуклидного загрязнения и пр. Каждый вид цеолита имеет определенный размер “окон”, что отражается на их адсорбционной способности, а именно на количестве и размерах соединений, которые он может сорбировать. В настоящее время пристальное внимание исследователей привлекает терапевтический потенциал цеолитов, обусловленный детоксицирующими, антиоксидантными и противовоспалительными свойствами. В частности, гипоаллергенный детокс комплекс цеолит (Complex Zeolite Therapy, Iv Sent Bernard, Italy) используют для очищения от токсинов и защиты кожи и шерсти собак. Коммерческий препарат цеолита ZeoDetox в процессе ионного обмена заменяет катионы металлов на положительно заряженные токсины в организме человека, которые затем удерживаются кристаллической решеткой и выводятся через желудочно-кишечный тракт. Известно около 80 видов цеолитов, различающихся не только по размеру “окон”, но и структуре фиброзной, ламеллярной либо сферической морфологии (Ivanova, Knyazeva, 2013). Необходимо отметить, что не все цеолиты безопасны: так, эрионит обладает канцерогенными свойствами и формирует фибриллы, которые способны, подобно асбесту, индуцировать развитие мезотелиомы легких человека (Attanoos et al., 2018). Фауязит, допированный частицами серебра, обладает антимикробным действием, которое может проявляться и в отношении необходимых для поддержания здоровья человека представителей кишечного микробиоза (Ferrerria et al., 2012). Наиболее часто используемый в медицине минерал группы цеолитов – это клиноптилолит (Pavelic et al., 2018; Mastinu et al., 2019). Ранее при сравнении токсичности цеолитов по отношению к эукариотическим клеткам было установлено, что наименьшим токсическим эффектом обладает клиноптилолит, снижавший за 48 часов выживаемость клеток на 30% по сравнению с необработанными клетками. При этом шабазит месторождений Казахстана угнетал жизнеспособность клеток на 40%, а натролит месторождений Кольского полуострова – на 70% (Khojaewa et al., 2019). Поэтому для установления возможности служить носителем терапевтических белков был выбран природный необработанный клиноптилолит Татарско-Шатрашанского месторождения. В качестве модельного белка в работе использован сывороточный бычий альбумин. Задачами исследования были выявление адсорбционной способности природного клиноптилолита, а также анализ пролонгированного выхода адсорбированного белка для обоснования возможности данного минерала быть носителем различных белковых лекарственных препаратов.

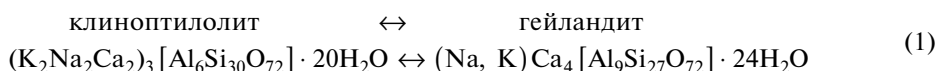
МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Белок. Для анализа возможности загрузки анионного белка использовали сывороточный бычий альбумин, доминирующий белок плазмы крови крупного рогатого скота ($pI = 4.9$, молекулярная масса 69 кДа, 607 аминокислотных остатка, Sigma Aldrich). Это одноцепочечный белок с трехдоменной структурой представляет собой глобулу в форме сплюснутого эллипсоида. Благодаря хорошей изученности свойств, бычий сывороточный альбумин широко применяется в лабораторной практике и может быть использован как модель для сорбции анионных терапевтических белков.

Месторождение. Образцы для исследований отобраны из цеолитсодержащих пород Татарско-Шатрашанского месторождения. Месторождение было открыто в 1990 году. Оно расположено на правом склоне долины реки Большая Якла в 1,5 км севернее от села Татарские Шатрашаны Дрожжановского района Республики Татарстан. В геоморфологическом плане месторождение является останцом верхнемеловых отложе-

ний в поле развития альбских глин. В геологическом строении месторождения принимают участие меловые и неоген-четвертичные образования. Продуктивную толщу Татарско-Шатрашанского месторождения слагают образования турон-сантонского (K_2t-st) возраста, сложенные цеолитсодержащими мергель-кремнистыми породами, характеризующимися монотонным цветом (серым или светло-серым) и выдержанными текстурно-структурными характеристиками (массивной текстурой, тонко-мелкозернистой структурой). Всего в разрезе продуктивной толщи выделяются четыре пачки, которые различаются по содержанию цеолитов. Наиболее высокое содержание цеолитов наблюдается в самой верхней части разреза продуктивной толщи – пачка 1 (20–30% при среднем содержании 23.17%). В средней части разреза (пачка 2) это содержание имеет тенденцию к снижению и в среднем составляет 17.7%. Эта тенденция становится устойчивой в породах третьей пачки. Здесь содержание цеолитов обычно находится на уровне 15%, а в подошве пачки даже ниже. Некоторое повышение содержания цеолитов, иногда аномальные значения до 25%, наблюдаются в подошве продуктивной толщи – 4-й пачки при среднем их содержании 15.81%. Минеральный состав цеолитсодержащих мергель-кремнистых пород однообразен. Основные минералы: цеолиты, кальцит, фазы кремнезема, глинистые минералы (монтмориллонит, гидрослюда), а также кварц в количестве до 90–95% объема породы (Тюрин, 2003; Кусова, 2005).

Содержание цеолитов, во многом определяющее полезные свойства цеолитсодержащих мергель-кремнистых пород, меняется от 15 до 30%. Преобладающим цеолитом является клиноптилолит. В тоже время дефицит щелочных металлов (K, Na) и избыток Ca дает основание отнести его к промежуточным членам ряда клиноптилолит-гейландит:



Образцы цеолитсодержащих пород. В работе использовались 3 образца из первой пачки Татарско-Шатрашанского месторождения в виде гранул (г) и порошка (р), а именно: 1) образец Р-37г, Р-37р; 2) образец Р-42г, Р-42р; 3) образец А-1г, А-1р. Минеральный состав пачки выдержан (%): цеолиты 15–23, глинистые минералы 13–15, фазы кремнезема 25–43, кальцит 18–21, кварц + полевой шпат 0.5–14%. Химический состав однообразен (мас. %): SiO_2 52.87, Al_2O_3 6.23, Fe_2O_3 2.48, CaO 15.88, MgO 1.46, Na_2O 0.14, K_2O 1.18, P_2O_5 0.1, п. п. п ($H_2O + CO_2$) 19.73. Суммарная катионообменная емкость высокая – 88.42 мг-экв/100 г, причем основная доля приходится на катион кальция Ca^{2+} – 77.40 мг-экв/100 г. Участие других катионов в обмене имеет подчиненное значение (мг-экв/100 г): K^+ 6.55, Na^+ 1.74, Mg^{2+} 2.73. Содержание токсичных элементов (As, Pb, Cd, Hg) не превышает ПДК (предельно допустимых концентраций) (Тюрин, 2003).

Суммарная эффективная активность естественных радионуклидов: 226Ra, 232Th, 40K составляет 3.2–4.4 Бк/кг \times 37, что, согласно сертификату аккредитации сырья, позволяет отнести все породы Татарско-Шатрашанского месторождения к I классу применения. Из вышеизложенного можно заключить, что цеолитсодержащие мергель-кремнистые породы не канцерогенны, не токсичны, не радиоактивны, т.е. можно считать их пригодными во всех возможных видах использования.

Образцы раздробленного до гранул и мелкодисперсного порошка цеолитсодержащих пород были промыты 96% этанолом, затем подвергнуты обработке ультразвуком для дезинтеграции агрегатов (10 мин, 35 кГц, 130 В, Sapphire, Россия) и высушены при комнатной температуре. Каплю разбавленных образцов цеолитсодержащих пород помещали на решетку с углеродным покрытием и оставляли испаряться. Образцы были проанализированы с помощью трансмиссионного электронного микроскопа Hitachi

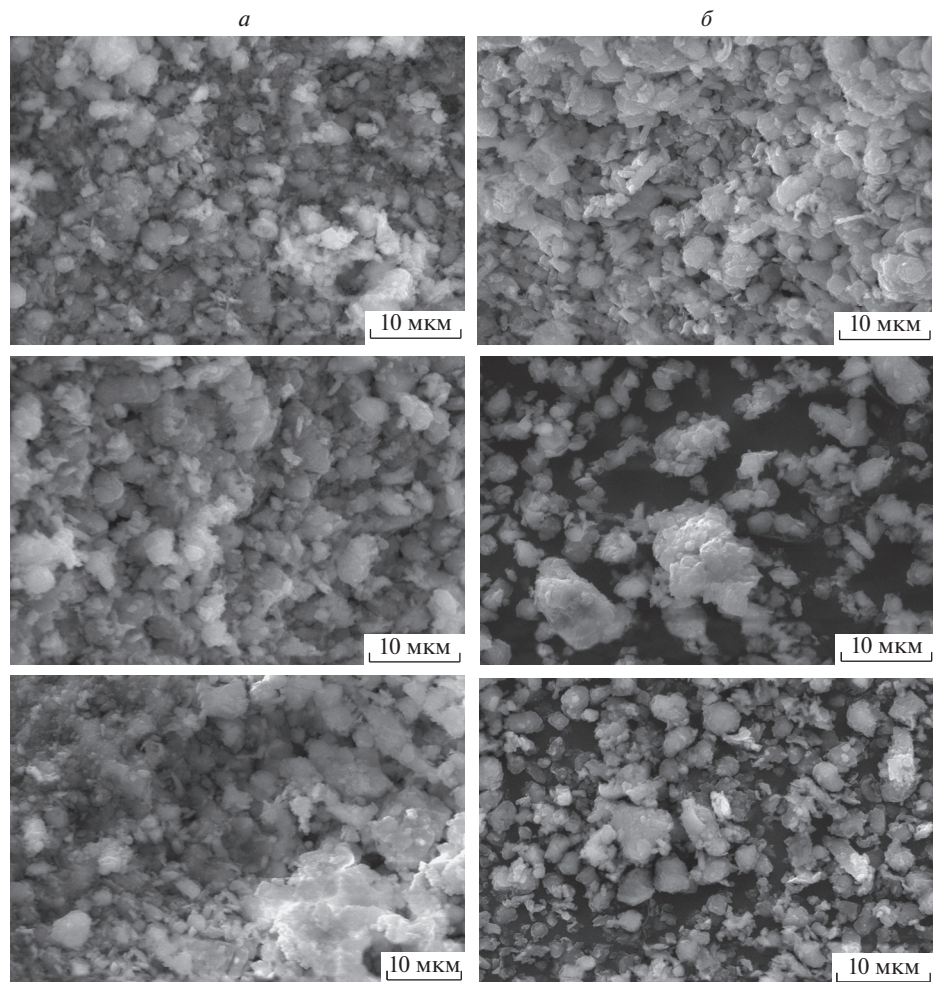


Рис. 1. Электронно-микроскопические снимки дробленых цеолитсодержащих пород. *a* – гранулярная форма, *б* – порошковая. Сверху вниз образцы из скважин по разрезу: Р-37, Р-42, А-1.¹

Fig. 1. Photographs of crushed zeolites. *a* – granular form, *b* – powder. From top to bottom, samples from wells along the section: R-37, R-42, A-1.

HT7700 Exalens (Hitachi High-Tech Science Corporation, Япония) при разрешении 1.4 Å. Светлопольные изображения записывались при ускоряющем напряжении 100 кВ с помощью камеры АМТ XR-81. На рис. 1 представлены фотографии структур используемых цеолитсодержащих пород. Микроскопия не выявила принципиальных различий в образцах гранулированного и порошкового цеолитов из разных скважин. Дисперсность образцов во всех исследуемых образцах была неоднородной.

Белок загружали на цеолит одновременно. Использовали раствор белка в концентрации 300 мкг/мл дистиллированной воды, к этому раствору добавляли 3 г порош-

¹ Снимки сделаны в лаборатории электронной микроскопии института геологии и нефтегазовых технологий КФУ Б.М. Галиуллин – инженером кафедры региональной геологии и полезных ископаемых.

ка/гранул цеолитсодержащих пород. Количество адсорбированного белка определяли в динамике каждый час в течение 4-х часов инкубации при комнатной температуре, далее точки снимали после 24 и 72 ч. Адсорбцию белка анализировали по снижению поглощения супернатанта смеси после центрифугирования при 8000 об./мин в течение 5 мин.

Анализ загрузки и выхода белков. Белок в растворе измеряли по поглощению при 280 нм, благодаря присутствию в его структуре ароматических аминокислот, главным образом, тирозина и триптофана. Контролем служили измерения выхода потенциальных соединений, поглощающих в этой области, а именно ароматических аминокислот и пептидов. Данные получены с помощью спектрофотометра SmartSpec Plus, предназначенного для измерения спектральной оптической плотности (десятичный логарифм спектрального коэффициента пропускания) твердых и жидких образцов в диапазоне длин волн от 200 до 800 нм.

Адсорбционную емкость цеолитсодержащих пород в условных единицах рассчитывали по формуле (2) (Пирузян и др., 2008):

$$A = \left[\frac{C_n - C_k}{m} \right] \times V, \quad (2)$$

где C_n – начальное содержание белка в растворе, мкг/мл, C_k – конечное содержание белка в растворе, мкг/мл, m – навеска сорбента, мкг, V – объем раствора белка, мл.

Статистика. Статистический анализ данных экспериментальных работ был проведен с использованием пакета программ GraphPad Prism6 software (США). При сравнении групп данных использовали непараметрический критерий Крускала–Уоллиса. Достоверным различие считали при $p < 0.05$.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Исходя из известной способности цеолитов к катионному обмену, была проанализирована возможность загрузки в образцы анионного альбумина из сыворотки крови быка. Оказалось, что как гранулированные, так и порошковые образцы цеолитсодержащих пород уже в течение 3-х часов поглощают из раствора сывороточный бычий альбумин, при этом достигается загрузка на уровне 70% от общего содержания белка в растворе (рис. 2, а, б).

Длительное время загрузки, увеличенное до 72 ч, не внесло существенного вклада в поглощение белка: его уровень возрос всего примерно на 10% (рис. 2, в, г).

Таким образом, установлено, что природные образцы цеолитсодержащих пород способны также к анионному обмену. Данный факт можно объяснить отчасти неравномерным распределением зарядов по поверхности белковой молекулы, однако, предположительно, образцы могут содержать остаточные количества отрицательно заряженных органических веществ, накопленных в процессе формирования породы.

Анализ выхода из незагруженных цеолитсодержащих пород соединений, поглощающих при 280 нм, продемонстрировал увеличение поглощения раствора с течением времени (рис. 3).

Известно, что карбонильная группа $>C=O$, входящая в состав альдегидов, кетонов, а также ацилгалогенидов и карбоновых кислот, образующих анионы, является хромофором, поглощающим в области 280 нм.

Вероятно, цеолитсодержащие породы могут содержать и отрицательно заряженные ионы простых органических соединений. Это означает, что для расчета выхода белка из загруженных образцов необходимо принимать во внимание разницу поглощения раствора цеолитсодержащих пород с адсорбированным белком и раствора фоновой цеолитсодержащей породы без загрузки, что и было учтено при анализе выхода белка (рис. 4).

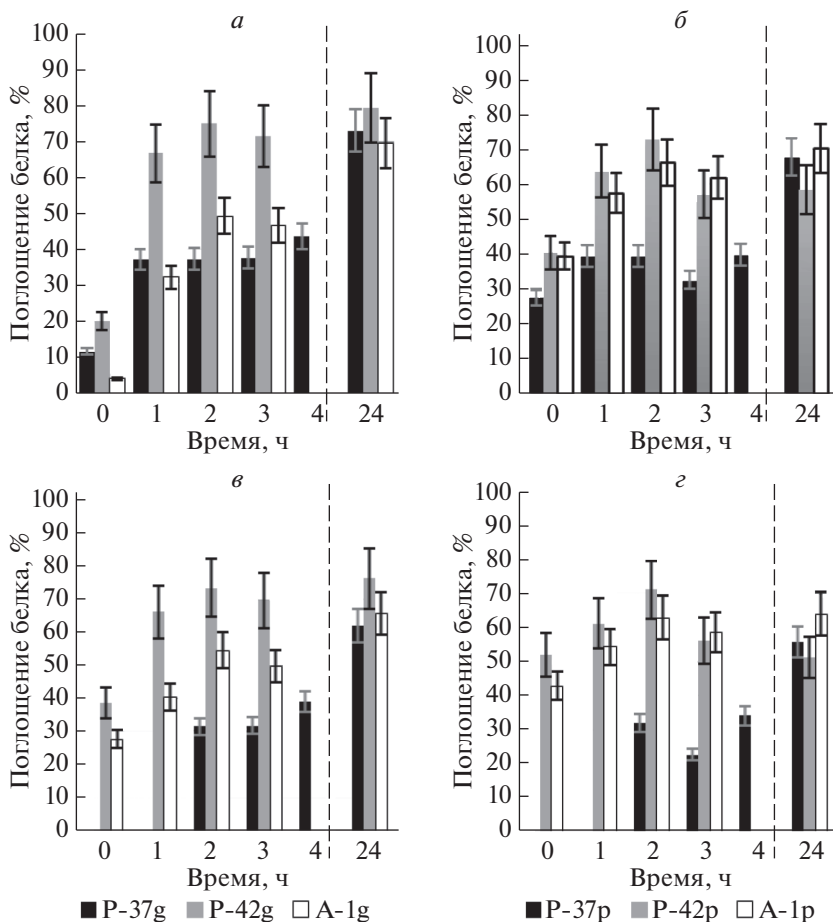


Рис. 2. Динамика адсорбции анионного белка – бычьего сывороточного альбумина гранулярными (*а, в*) и порошковыми цеолитсодержащими породами (*б, з*) из трех скважин Татарско-Шатрашанского месторождения. За 100% принято содержание белка в растворе. Концентрация белка во всех вариантах с цеолитами достоверно отличается от исходной концентрации белка в растворе.

Fig. 2. Dynamics of adsorption of anionic protein – bovine serum albumin by granular (*a, v*) and powder zeolites (*б, з*) from three wells of the Tatarsko-Shatrashan field. The protein content in the solution is taken as 100%. The protein concentration in all variants with zeolites significantly differs from the initial protein concentration in the solution.

Выход белка из образцов цеолитсодержащих пород в динамике представлен на рис. 4. Расчет адсорбционной емкости образцов цеолитсодержащих пород для альбумина выявил, что порошковые и гранулярные фракции образцов практически не отличаются по емкости (табл. 1). Действительно, частицы гранулярной фракции имели преобладающие размеры более 1 мкм, а порошковой фракции – менее 1 мкм (рис. 1), при этом обе фракции были гетерогенными, вследствие чего различия в адсорбционной емкости были нивелированы.

Однако, наблюдалось различие в емкости образцов из разных скважин. Так, максимальную емкость проявил образец Р-42 (табл. 1). Отметим, что длительная инкубация этого образца цеолитсодержащей породы с белком не приводила к увеличению ад-

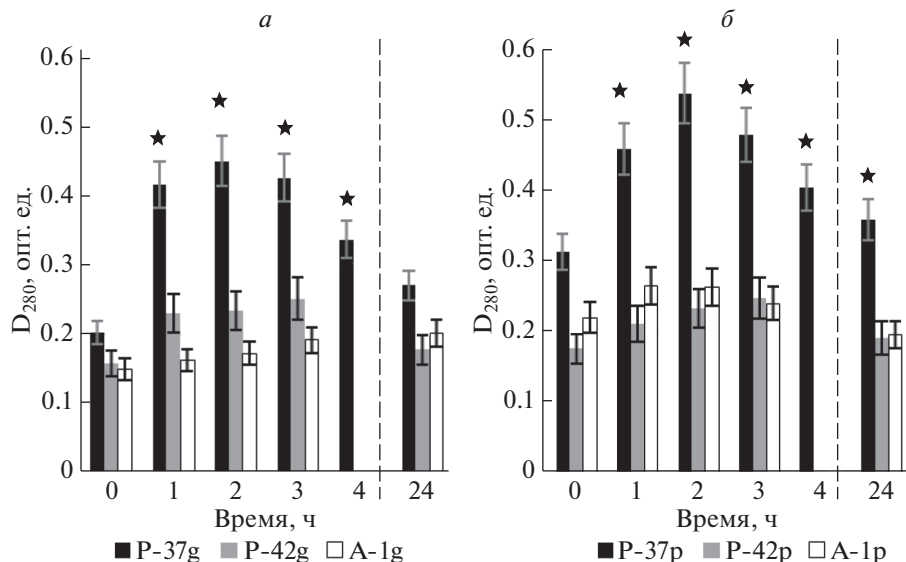


Рис. 3. Динамика выхода остаточных органических веществ из образцов цеолитсодержащих пород. *a* – гранулярные цеолитсодержащие породы, *б* – порошковые. Звездочкой отмечено достоверное отличие между вариантами цеолитов.

Fig. 3. Dynamics of the release of residual organic substances from zeolite samples. *a* – granular zeolites, *б* – powder. Star marks reliable difference between zeolite variants.

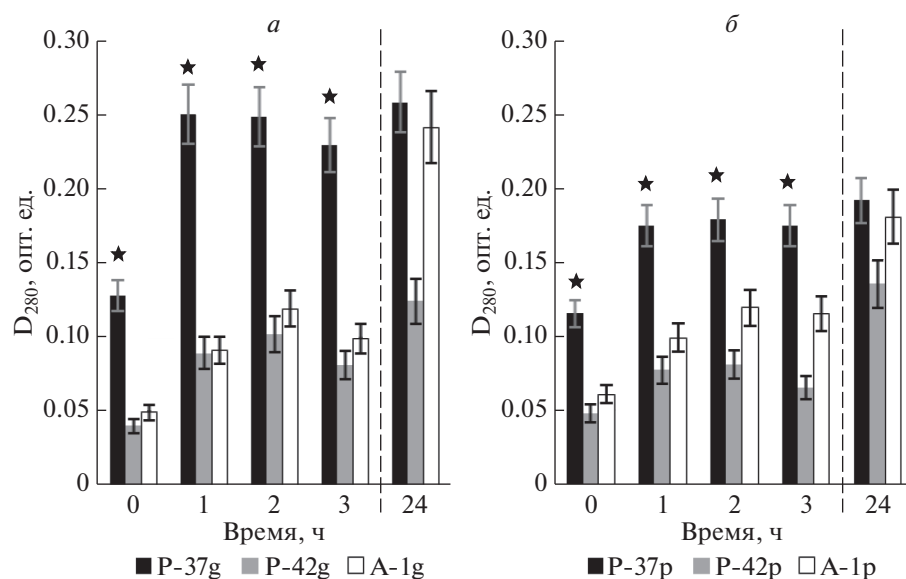


Рис. 4. Динамика выхода альбумина из образцов цеолитсодержащих пород. *a* – из гранулярных цеолитсодержащих пород, *б* – из порошковых цеолитсодержащих пород. Звездочкой отмечено достоверное отличие между вариантами цеолитов.

Fig. 4. Dynamics of albumin yield from zeolite samples. *a* – from granular zeolites, *б* – from powder zeolites. Star marks reliable difference between zeolite variants.

Таблица 1. Адсорбционная емкость цеолитсодержащих пород по отношению к анионному белку бычьего сывороточного альбумина, усл. ед.

Table 1. The adsorption capacity of zeolite-containing rocks in relation to the anionic protein of bovine serum albumin, conv. units

Обр. цеолитсодержащей породы	Инкубация 2 ч		Инкубация 24 ч	
	порошок	гранулы	порошок	гранулы
P-37	39.4	37.4	67.8	73.1
P-42	72.8	74.9	58.5	79.3
A-1	1.98	1.46	70.2	69.6

сорбции для порошковой фракции и практически не влияла на адсорбцию белка гранулярной фракцией. В то же время образцы P-37 и A-1 существенно увеличили адсорбционную емкость за 24 ч по сравнению с 2-х часовой инкубацией.

Хотя адсорбционные свойства цеолитов, в том числе и по отношению к белкам, известны, различные представители этих минералов могут обладать разными адсорбционными свойствами. Нами впервые установлена возможность исследованных цеолитсодержащих пород быть носителями анионного альбумина. При этом отметим, что лучшие адсорбционные свойства за минимальное время проявил образец P-42, показавший также наиболее пролонгированный выход белка, что особенно значимо для практического применения терапевтических белков. Постепенный медленный выход белка может обеспечить его биологическое действие в организме в течение длительного времени без потери его целевых функциональных свойств, вследствие расщепления протеазами. Отметим, что образец P-42 отличался по свойствам от двух других образцов — обладал наибольшей пористостью в сравнении с другими образцами.

Благодарности. Работа выполнена в рамках Программы стратегического академического лидерства Казанского (Приволжского) федерального университета.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

Карнаухова Л.И., Тулицын Е.Н. УФ-спектроскопия биологических макромолекул (учебно-методическое пособие). Саратов, изд-во Саратовского гос. ун-та, **2002**. 15 с.

Кусова Н.В. Кипящие камни (Цеолиты). Орлов. обл. публич. б-ка им. И.А. Бунина, **2005**. 18 с.

Пирузян А.В., Боковикова Т.Н., Найденов Ю.В. Адсорбция белка на природных сорбентах // Электронный научно-технический журнал “Физико-химический анализ свойств многокомпонентных систем”. **2008**. Выпуск № 6.

Тюрин А.Н. Минералого-литологическая характеристика цеолитсодержащих пород Татарско-Шатрашанского месторождения. Дисс. канд. г.-м. н. Казань, **2003**. 208 с.

Zeolites of the Tatarsko-Shatrashan Deposit as Carriers of Model Albumin for Promising Adsorption of Therapeutic Proteins

R. R. Islamova^{a, *}, G. Y. Yakovleva^{b, **}, A. N. Tyurin^{c, *},
O. N. Ilinskaya^{b, ****}, and O. N. Lopatin^{a, *****}**

^a*Institute of Geology and Oil and Gas Technologies, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia*

^b*Institute of Fundamental Medicine and Biology, Kazan (Volga Region) Federal University, Kazan, Russia*

^c*Tatar Geology and Prospecting Administration, Kazan, Russia*

**e-mail: geology.isl@mail.ru*

***e-mail: Yakovleva_Galina@mail.ru*

****e-mail: TurinAN@tatneft.ru*

*****e-mail: Olga.Ilinskaya@kpfu.ru*

******e-mail: Oleg.Lopatin@kpfu.ru*

Zeolites are known as natural adsorbents capable for ion exchange. The zeolite – clinoptilolite from the Tatarsko-Shatrashan deposit in the Republic of Tatarstan was studied as a possible carrier of therapeutic proteins. The Tatarsko-Shatrashan deposit has been discovered in 1990s in Drozhzhanovsky region of Tatarstan. The area has the well-developed infrastructure; the deposit is characterized by significant reserves of zeolite, represented by clinoptilolite. Previous studies comparing the toxicity of zeolites – natrolite, chabazite and clinoptilolite showed that the latter has the lowest toxicity and is characterized by the strongest adsorption capacity and ion-exchange properties. The studied samples were taken from the most productive part of the ore-body and material was used in form of powder and granules. As an adsorbate, there was used the model protein – bovine serum albumin. The article analyzes the possibility of studied zeolites to be carriers of anionic albumin, presents the results of albumin loading / unloading, the release of residual organic substances from zeolite samples. The measured adsorption capacity revealed the optimal carrier sample with the highest porosity. This work is a part of the Kazan Federal University Strategic Academic Leadership Program.

Keywords: absorption capacity, cation exchange, zeolites, zeolite-bearing rocks, clinoptilolite, Tatarsko-Shatrashan deposit, therapeutic proteins, albumen

REFERENCES

- Attanoos R.L., Churg A., Galateau-Salle F., Gibbs A.R., Roggli V.L.* Malignant mesothelioma and its non-asbestos cause. *Archives of Pathology & Laboratory Medicine*. **2018**. Vol. 142. N 6. P. 753–760.
- Pavelic S.K., Medica J.S., Gumbarevic D., Filošević A., Pržulj N., Pavelic K.* Critical review on zeolite clinoptilolite safety and medical applications in vivo. *Frontiers in Pharmacology*. **2018**. Vol. 9. Article 1350. P. 1–5.
- Ferreira L., Fonseca A.M., Botelho G., Aguiar C.A., Neves I.C.* Antimicrobial activity of faujasite zeolites doped with silver. *Microporous Mesoporous Materials*. **2012**. Vol. 160. P. 126–132.
- Ivanova I.I., Knyazeva E.E.* Micro-mesoporous material obtained by zeolite recrystallization: synthesis, characterization and catalytical applications. *Chemical Society Reviews*. **2013**. Vol. 42. N 9. P. 3671–3688.
- Karnaukhova L.I., Tupitsyn E.N.* UV-spectroscopy of biological macromolecules (study guide). Saratov: Saratov State University, **2002**. 15 p. (*in Russian*).
- Khojaeva V., Lopatin O., Zelenikhin P., Ilinskaya O.* Zeolites as carriers of antitumor ribonuclease binase. *Frontiers in Pharmacology*. **2019**. Vol. 10, Article 442. P. 1–7.
- Kusova N.V.* Boiling stones (zeolites). Orlov. region public libr. them. I.A. Bunin, **2005**. 18 p. (*in Russian*)
- Mastinu A., Kumar A., Maccarinelli G., Bonini S.A., Premoli M., Aria F., Gianocelli A., Memo M.* Zeolite clinoptilolite: therapeutic virtues of an ancient mineral. *Molecules*. **2019**. Vol. 24. N 8. Article 1517. P. 1–15.
- Piruzyan A.V., Bokovikova T.N., Naydenov Yu.V.* Protein adsorption on natural sorbents. *Electronic scientific and technical journal "Physical and chemical analysis of the properties of multicomponent systems."* **2008**. Vol. 6 (*in Russian*).
- Tyurin A.N.* Mineralogical and lithological characteristics of the zeolite-bearing rocks of the Tatar-Shatrashan deposit. Ph. D. thesis syn. Kazan: KSU, **2003**, 208 p. (*in Russian*).