

УДК 541.6

ИК-СПЕКТРОСКОПИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСНОГО СОЕДИНЕНИЯ ЦЕРИЯ (III) С ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫМ ГЕПАРИНОМ

М.И. Скобин, Т.В. Крюков, М.А. Феофанова, С.С. Рясенский

Тверской государственный университет
Кафедры неорганической и аналитической химии

Синтезировано твердое комплексное соединение высокомолекулярного гепарина с церием (III). Проведено ИК-спектроскопическое исследование. Сделаны предположения о структуре комплекса.

Ключевые слова: гепарин, РЗЭ, ИК-спектроскопия.

DOI 10.26456/vtchem2019.4.13

Природный гепарин является полимером с молекулярной массой в диапазоне от 3 до 30 кДа, но средняя молекулярная масса для коммерческих препаратов высокомолекулярного гепарина, в большинстве случаев, составляет 12 - 15 кДа [1].

Гепарин – это гликозаминогликан, состоящий из вариабельно сульфатированного повторяющегося дисахаридного звена. Наиболее часто встречается мономерное звено 2-О-сульфатированной идуроновой кислоты и 6-О-сульфатированного N-сульфатированного глюкозамина, IdoA (2S) - GlcNS (6S) (рис. 1).

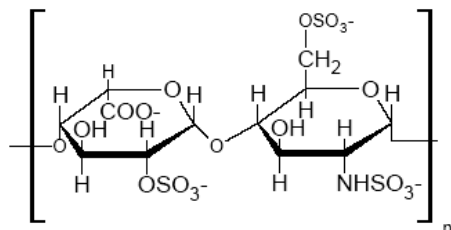


Рис. 1. Структурная формула мономерного звена гепарина

По экспериментальным данным 85 и 75 % гепаринатов, полученных из легких говядины и из слизистой оболочки кишечника свиньи соответственно, представляют собой IdoA (2S) - GlcNS (6S). Далее все расчеты и структурные предположения будут выполнены в предположении, что полимерная цепь построена из таких мономерных звеньев [1].

Так как гепарин является эффективным и нетоксичным антикоагулянтом, он имеет широкое распространение в медицинской

практике [2]. Несмотря на то, что гепарин относится к одной из наиболее изученных в химическом отношении молекул нашего организма, исчерпывающей информации об его биологической активности и роли в биохимических процессах, протекающих в живых системах все еще нет.

При попадании в кровь сложноэфирные и амидсульфатные группы депротонируются и при взаимодействии с положительно заряженными противоионами образуют соли гепарина.

Наличие в структуре полимерной цепи гепарина достаточно большого количества кислородсодержащих донорных группировок (сульфатные и карбоксильные группы, гликозидные атомы кислорода, гидроксильные группы), а также сульфамидных групп определяет широкие координационные возможности этого соединения. Анализируя структуру мономерного звена гепарина, приведенную на схеме выше, можно предположить, что дентатность такого лиганда должна быть достаточно высокой, и быть равной, как минимум, четырем [2, 3].

Лантаноиды, в том числе и Се, оказывают различное физиологическое воздействие на растения и животных и в основном считаются низкотоксичными [4].

Существует гипотеза, что в живых организмах редкоземельные элементы выполняют одинаковую функцию с кальцием. Из-за этого они и скапливаются в органах, содержание кальция в которых больше по сравнению с остальными. В грунтах содержание РЗЭ достигает 0,24 %. Из грунтов данные элементы попадают в растения. Наблюдается повышенное содержание в люпине, сахарной свёкле, чернике, разных водорослях и некоторых других растениях. В молоке, крови и костях животных, выявлено присутствие металлов цериевой группы [5].

На данный момент использование лантаноидов в медицине принимает все больший размах. Фармакологические свойства лантаноидов таковы, что их содержание в организме снижает кровяное давление, уровень холестерина и глюкозы, уменьшает аппетит, препятствует свертыванию крови и предотвращает атеросклероз у подопытных животных. Потенциальное преимущество использования веществ в медицине с такими фармакологическими свойствами заставляет все больше исследователей обратить на них свое внимание. Некоторые комплексы лантаноидов оказывают противовоспалительное воздействие; например, флогодин (англ. phlogodyn) довольно широко применяется в Венгрии [6].

Анализируя свойства лантаноидов, стоит подчеркнуть их высокую антикоагулянтную активность. При внутривенном введении растворов солей РЗЭ эффект наступает практически мгновенно и продолжается в убывающей степени около суток [7].

На основе вышеизложенных фактов понятно, что необходимо тщательное и более полное исследование твердых комплексных соединений РЗЭ (Ce^{3+}) с гепарином. Последнее обеспечит безопасное применение антикоагулянтной терапии гепарином, снизит риски, повысит эффективность и удешевит процесс лечения.

В данной работе использовался стандартный фармакологический раствор гепарина (12000 Да) в форме тетранатриевой соли, производства РУП «Белмедпрепараты» - каждый миллилитр такого раствора содержал 5000 ЕД (1 ЕД = 0,0077 мг гепарина) или 38.5 мг соли [8].

Раствор хлорида церия (III) готовили из навески его кристаллогидрата классификации «х.ч.» в бидистиллированной, кипяченой воде. Полученный раствор был стандартизирован по ГОСТ 10398-2016.

Измерения значений рН проводили с помощью И-160МП, укомплектованного измерительным комбинированным электродом ЭСЛК-01.7 «Аквилон» и автоматическим термокомпенсатором ТКА-1000.1. Точность измерения рН ± 0.01 . Температура поддерживалась в течение опыта ультратермостатом УТУ-2/77.

По диаграммам концентрационного распределения комплексных форм, полученных с помощью методов математического моделирования, определяли рН_{опт}. Диаграмма приведена в работе [8] и на рис. 1.

ИК спектры снимали на FT-IR спектрофотометре EQUINOX 55 фирмы Bruker. Образцы для съемки ИК спектров готовили в виде таблеток, которые прессовали из смеси исследуемого вещества и KBr. ИК спектры снимали в диапазоне 450 – 7500 cm^{-1} .

Средний комплекс гепарината церия был получен смешением растворов хлорида церия с раствором натриевой соли гепарина в эквивалентных количествах. Добавлением необходимого количества HCl к исходным растворам устанавливали значение рН_{опт}, при котором концентрация средних комплексов максимальна. Во время синтеза поддерживалась температура 37°C.

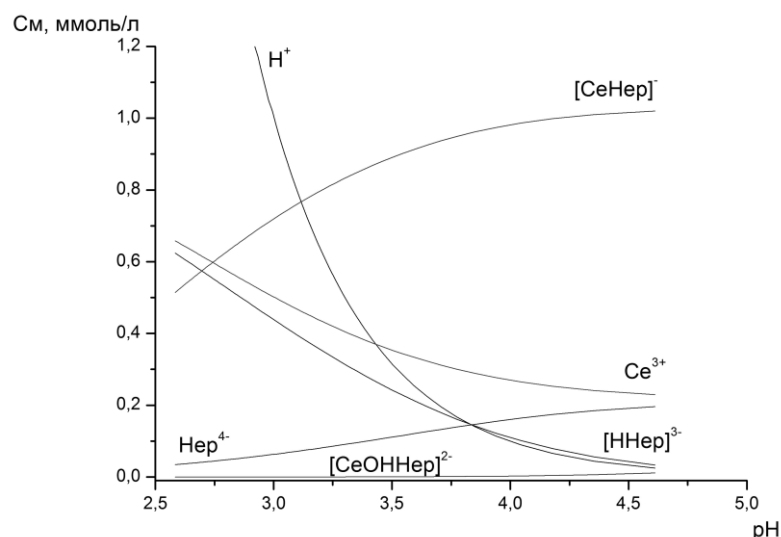


Рис. 1. Концентрационная диаграмма системы $\text{CeCl}_3 - \text{Na}_4\text{Hep} - \text{H}_2\text{O}$

В полученные растворы для ускорения выпадения комплексного соединения добавляли «ч.д.а.» ацетон, тем самым уменьшая растворимость комплекса. Выпал бесцветный аморфный осадок гепарината церия, который после промывания его ацетоном распадался на мелкие кристаллы белого цвета.

Результаты и их обсуждение

Были получены и исследованы ИК-спектры гепарината натрия (рис.2) и комплекса высокомолекулярного гепарина с церием (III) (рис.3). Характеристические частоты важнейших полос, полученные в результате расшифровки снятых спектров, представлены в табл. 1.

При интерпретации ИК-спектров изучаемого комплекса или натриевой соли гепарина использовался эмпирический метод характеристических частот. При обсуждении структуры исследуемого комплекса исходили из соотношения положений тех или иных полос поглощения в спектре цериевого комплекса с гепарином в сравнении со спектрами натриевой соли гепарина.

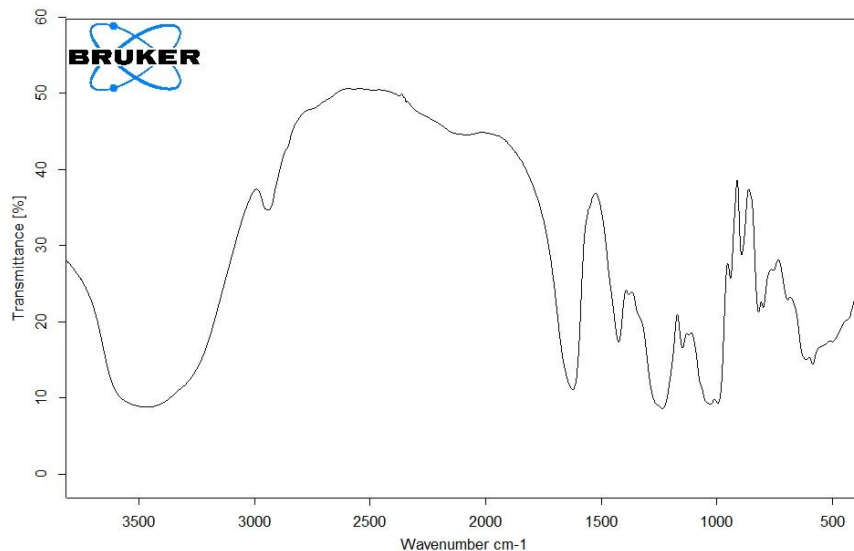
В спектрах комплексов и гепарината натрия присутствует широкая полоса в области $3500\text{-}3300\text{ см}^{-1}$, которая соответствует валентным колебаниям связей в функциональной группе О-Н. Сдвиг полосы у комплекса в низкочастотную область говорит об образовании достаточно сильных внутри- и межмолекулярных водородных связей. Валентная полоса N-H, находящаяся в области $3500 - 3400\text{ см}^{-1}$, перекрыта более интенсивной полосой О-Н.

Т а б л и ц а

Спектральные характеристики гепарината натрия и комплекса высокомолекулярного гепарина с церием(III) в ИК – области

Полосы Na ₄ Нер, см ⁻¹	Полосы комплекса, см ⁻¹	Расшифровка	Источник для гепарина
≈ 3459	≈ 3423	-О-Н (полиассоциаты) (вал.)	[9]
1624	1631	H ₂ O (деф.), C=O (вал., асимметр.)	[10]
1425	1439	C=O (вал., симметр.)	[11]
1235	1225	S=O (вал., асимметр.)	[11]
1026	1034	S=O (вал., симм.)	[11]
893	888	C-O-C (вал., асимметр.) и C-O-S	[12]
799	796	C-O-S 2-о-сульфо	[12]
618	607	S=O	[12]

Отчетливо разрешена полоса ≈ 1640 см⁻¹, соответствующая деформационным колебаниям H₂O. Данная полоса является одним из важных критериев для предположения о наличии кристаллогидратной воды в исследуемом объекте. В данной области должна находиться полоса асимметричных валентных колебаний связи C=O в карбоксилатной группе, но она перекрыта полосой деформационных колебаний H₂O.



Р и с . 2 . ИК спектр гепарината натрия

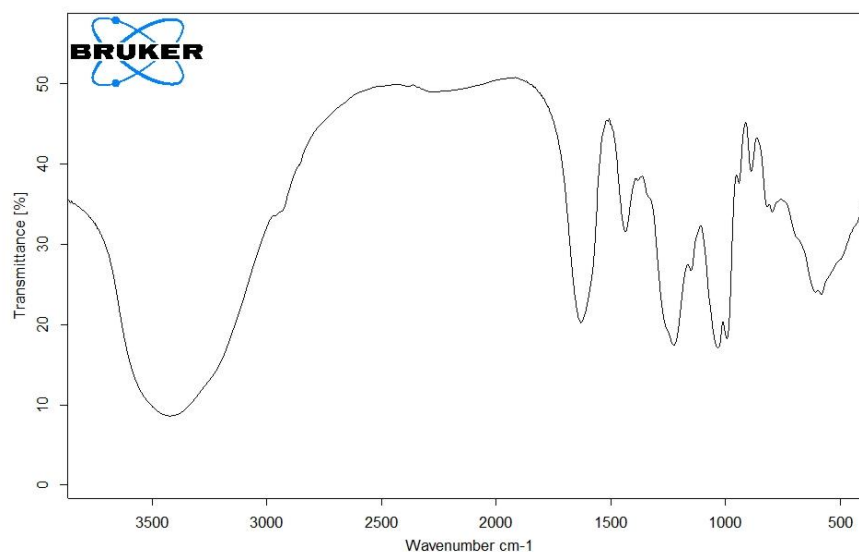
К симметричным валентным колебаниям связи C=O внутри карбоксилатной группы отнесем полосу $\approx 1430 \text{ см}^{-1}$ как на спектре гепарина, так и на спектре комплекса.

Поглощение в области $\approx 1210 \text{ см}^{-1}$, вызвано асимметричными колебаниями связей S=O внутри сульфатной группировки, а симметричные колебания связей S=O соответствует поглощению в области $\approx 1040 \text{ см}^{-1}$. В результате взаимодействия церию (III) с гепарином заметно смещение в область более низких частот колебаний связей S=O внутри сульфатной группировки.

В области с 1000 см^{-1} начинается область отпечатков пальцев, где идентифицировать полосы становится труднее. В этой области мы можем выделить валентные асимметричные колебания C-O-C / C-O-S $\approx 890 \text{ см}^{-1}$, полоса C-O-S связи принадлежащей к 2-о-сульфогруппе и полоса S=O $\approx 618 \text{ см}^{-1}$.

В итоге мы имеем в исследуемом комплексе по отношению к гепаринату натрия смещение в область более низких частот: валентных колебаний связей в функциональной группе O-H; валентных, асимметричных колебаний связей S=O внутри сульфогруппы; валентных асимметричных колебаний C-O-C / C-O-S; колебаний C-O-S связи принадлежащей к 2-о-сульфогруппе.

В область более высоких частот смещаются: деформационные колебания H₂O; симметричные валентные колебания связи C=O внутри карбоксилатной группы; валентные, симметричные колебания связей S=O внутри сульфатной группы.



Р и с . 3 . ИК спектр комплекса высокомолекулярного гепарина с церием (III)

Исходя из результатов ИК-спектроскопического исследования можно предположить, что ион Ce^{3+} координируется с гепарином за счет сульфатных, карбоксильных функциональных групп, а также образует донорно-акцепторные связи с кислородом в С-О-С и С-О-S. Можно полагать, что в комплексе должна присутствовать кристаллизационная вода, которая образует водородные связи с многочисленными сульфогруппами.

Авторы выражают благодарность за оказанную помощь в проведении исследований отделению физико-химического анализа ЦКП ТвГУ зав. лабораторией спектроскопии к.х.н. С.Д. Хижняк.

Список литературы

1. Bentolila A., Vlodavsky I., Haloun C. and Domb A. J. // *Polymers for Advanced Technologies*. 1978. V. 11, Issue 8-12. P. 377–387 (doi: 10.1002/10991581(200008/12)11:8/12<377::AIDAT985>3.0.CO;2-D).
2. Белоусов Ю.Б., Моисеев В.С., Лепахин В.К. Клиническая фармакология и фармакотерапия. М.: Универсум, 1993. 398с.
3. Rudd T.R., Skidmore M.A. et al. // *Carbohydrate Res.* 2008. V. 343. P. 2184 – 2193.
4. Franz Goecke, Celia G. Jerez, Vilém Zachleder [et al.] // *Frontiers in Microbiology*. 2015. V. 6.
5. Голуб, А. М. Общая и неорганическая химия. Киев: Высшая школа, 1971. Т. 2. С. 416.
6. Evans, C. H. *Biochemistry of the Lanthanides*. Springer US, 1990. V. 8. P. 444.
7. Чазов Е.И., Лакин К.М. Антикоагулянты и фибринолитические средства. М.: Медицина, 1975.
8. Скобин М.И., Крюков Т.В., Феофанова М.А. и др. // *Вестник ТвГУ. Серия: Химия*. Тверь. Твер. гос. ун-т, 2018. Вып. 4. С. 213–219.
9. Тарасевич Б.Н. ИК спектры основных классов органических соединений. Справочные материалы М.: Химический факультет МГУ, 2012. 52 с.
10. Юхневич, Г.В.. *Инфракрасная спектроскопия воды*. М.: Изд. Наука, 1973. 207с.
11. Grant D., Long W.F., Moffat C.F., et al. // *Biochem J.* 1989. V. 261(3). P. 1035–1038.
12. Grant D., Long W.F., Moffat C.F., et al. // *Biochem. J.* 1991. V. 275. P. 93–197

IR-SPECTROSCOPIC STUDY OF THE COMPLEX COMPOUND OF CERIUM (III) WITH HIGH-MOLECULAR HEPARIN

M.I. Skobin, T.V. Kryukov, M.A. Feofanova, S.S. Ryasenskiy

Tver State University

A solid complex compound of high molecular weight heparin with cerium (III) was synthesized. An IR spectroscopic study was performed. Assumptions are made about the structure of the complex.

Keywords: *heparin, rare-earth elements, IR-spectroscopic study.*

Об авторах:

СКОБИН Михаил Игоревич – аспирант, ФГБОУ ВПО «Тверской государственный университет», e-mail: Skobin.MI@tversu.ru

КРЮКОВ Тимофей Владимирович – аспирант, ФГБОУ ВПО «Тверской государственный университет», e-mail: tvkryukov@edu.tversu.net

ФЕОФАНОВА Мариана Александровна – кандидат химических наук, доцент, ФГБОУ ВПО «Тверской государственный университет», e-mail: Feofanova.MA@tversu.ru

РЯСЕНСКИЙ Сергей Станиславович – кандидат химических наук, доцент, ФГБОУ ВПО «Тверской государственный университет», e-mail: Ryasenskiy.SS@tversu.ru

Поступила в редакцию 18 ноября 2019 г.