

УДК 535.343.32 : 543.422.3-76 : (615.356 + 54-328) : 544.18

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНОЕ И КВАНТОВО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ВИТАМИНА В<sub>1</sub> С СОПОЛИМЕРОМ МАЛЕИНОВОГО АНГИДРИДА

Т.Г. Тюриня, Н.О. Шевчук, О.М. Заречная, Т.В. Крюк

ГУ «Институт физико-органической химии и углехимии  
им. Л. М. Литвиненко», г. Донецк

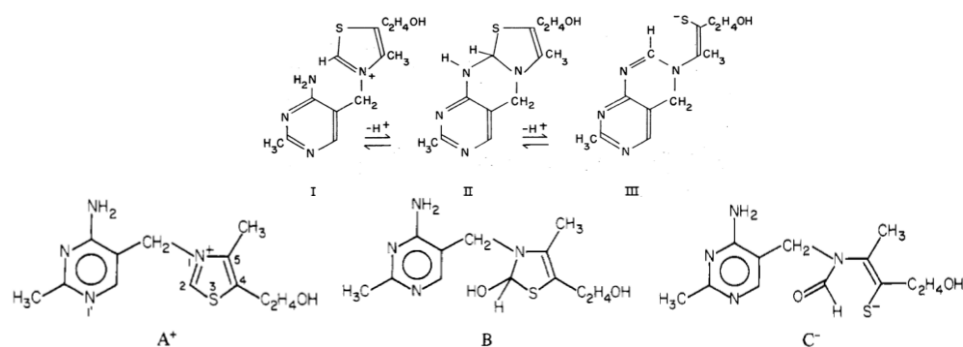
Изучено влияние добавок сополимера малеинового ангидрида с винилацетатом и янтарной кислоты на поглощение тиамин гидрохлорида (витамина В<sub>1</sub>) в водных растворах в диапазоне рН 3–7. Показано влияние рН раствора на спектральные характеристики тиамин. Найдено, что сополимер и янтарная кислота оказывают близкое влияние на процесс структурного равновесия тиамин, в равной степени увеличивая коэффициенты экстинкции по обеим полосам поглощения. Сопоставительный расчет (РМЗ) ионных пар оптимальной конфигурации В<sub>1</sub> с анионами янтарной кислоты, СГ<sup>-</sup> или ОН<sup>-</sup> показал наибольший выигрыш энергии при связывании с гидроксиллом, что может служить объяснением неизменности спектров В<sub>1</sub> с различными добавками щелочи.

**Ключевые слова:** витамин В<sub>1</sub>, сополимеры малеинового ангидрида, электронные спектры, квантово-химические расчеты.  
DOI 10.26456/vtchem2019.4.10

Сополимеры малеинового ангидрида (МА) физиологически активны [1] и, гидролизуясь в водной среде, способны взаимодействовать с лекарственными препаратами, содержащими катионные группы. Исследование подобных взаимодействий позволяет прояснить природу конформационных превращений полииона и иона лекарственного препарата, выявить особенности их взаимодействия, прогнозировать возможное взаимодействие биологически активного иона с другими природными полиионами в организме человека. В качестве такого препарата нами был использован тиамин (витамин В<sub>1</sub>) – 3-[(4-амино-2-метил-5-пиримидил)метил]-5-(2-гидроксиэтил)-4-метил-тиазол. Учитывая строение В<sub>1</sub> (наличие в составе молекулы циклов пиримидина, тиазола, первичной аминогруппы, положительный заряд на азоте в цикле тиазола) можно ожидать активного взаимодействия В<sub>1</sub> с анионами, особенно поликислотой с регулярным чередованием

карбоксильных групп, каким является в водном растворе сополимер МА.

Большинство публикаций по спектральным свойствам тиамин посвящено рассмотрению механизма его структурных превращений в нейтральных и слабоосновных ( $\text{pH} < 11$ ) водных средах, например, [2–6]. В них рассматривается возможные равновесия между тремя основными формами тиамин: катионом, нейтральной молекулой и псевдооснованием (рис. 1), поглощение которых накладывается друг на друга в области 200-300 нм.



Р и с. 1. Схематическое представление структур тиамин (согласно [3] и [5])

Целью данной работы было исследование влияния добавок сополимера МА и винилацетата (МА–ВА), а также янтарной кислоты (ЯК), как модели гидролизованного звена МА, на состояние тиамин гидрохлорида (витамин В<sub>1</sub>) в водном растворе методом УФ спектроскопии, а также квантово-химический расчет возможных контактных ионных пар между В<sub>1</sub> и анионами для объяснения изменений в электронных спектрах.

Сополимер МА-ВА синтезировали и выделяли, как описано в работе [7]. Для приготовления растворов В<sub>1</sub> использовали фармацевтический препарат тиамин гидрохлорид и бидистиллированную воду, освобожденную от СО<sub>2</sub> кипячением. Для изучения взаимодействия В<sub>1</sub> с добавками готовили их концентрированные растворы; смешивали последовательно необходимые объемы раствора витамина, растворителя и раствора добавки. Измерение рН растворов проводили с использованием иономера И-160МИ со стеклянным электродом ЭС-10603 и хлорсеребряным электродом ЭСр-10103 в качестве индикаторного и электрода сравнения. Электронные спектры растворов витамина В<sub>1</sub> с концентрацией от  $2 \cdot 10^{-5}$  до  $1,2 \cdot 10^{-4}$  М и его растворов с добавками сополимера, ЯК, НСl, NaOH регистрировали при 298 К с помощью спектрофотометра Helios Gamma в области 200-300 нм, применяя

кварцевые кюветы с длиной поглощающего слоя 10 мм. Обработку спектров с целью разделения накладывающихся полос проводили в рамках пакета программ «Origin 9.1».

Прежде всего было проведено исследование состояния витамина В<sub>1</sub> в водном растворе, чтобы учесть влияние изменения рН раствора при увеличении концентрации В<sub>1</sub> на форму спектра вследствие возможных изменений в соотношении структур витамина и заряда на них.

В водном растворе спектры поглощения В<sub>1</sub> имеют два максимума с центрами ~230 и ~270 нм ( $\lambda_1$  и  $\lambda_2$ ), примерно равной интенсивности (рис. 2а). Рост концентрации витамина В<sub>1</sub> приводит к сближению полос поглощения: величина  $\Delta\lambda = \lambda_2 - \lambda_1$  изменяется от 36 до 24 нм при увеличении концентрации В<sub>1</sub> от  $2 \cdot 10^{-5}$  до  $1,2 \cdot 10^{-4}$  М; рН раствора снижается при этом от 4,963 до 4,337 соответственно.

Учитывая данные литературы, рассматривали, насколько поглощение витамина зависит от изменения рН раствора в более широком диапазоне, от 3,3 до ~7. Для этого были записаны спектры тиамин гидрохлорида ( $[B_1] = 5,98 \cdot 10^{-5}$  М) в присутствии добавок NaOH и HCl. Полученные спектры приведены на рис. 2б.

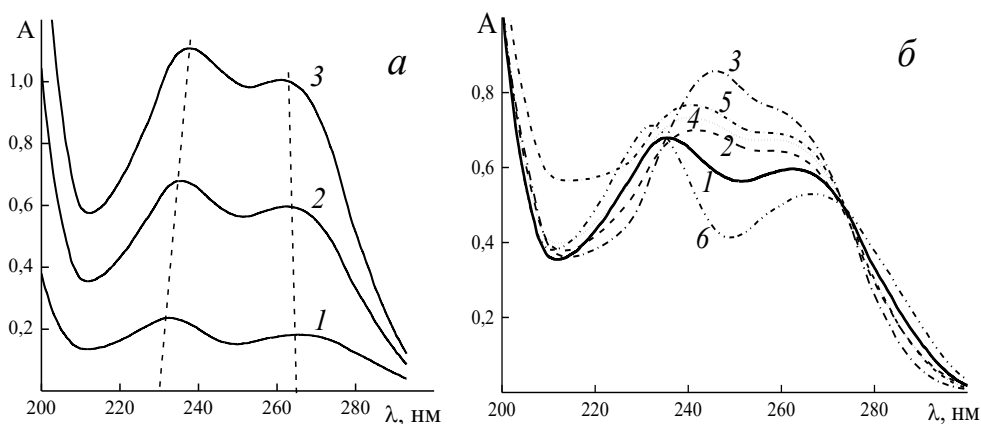


Рис. 2. Электронные спектры поглощения В<sub>1</sub> в водных растворах.

а) без добавок;  $[B_1] \cdot 10^5$ , М: 1,99 – 1; 5,98 – 2; 9,96 – 3.

б)  $[B_1] = 5,98 \cdot 10^{-5}$  М; без добавок (рН 4,47) – 1; в присутствии добавок: HCl ( $0,6 \cdot 10^{-4}$  М, рН 4,1) – 2; HCl ( $4 \cdot 10^{-4}$  М, рН 3,3) – 3; ЯК ( $4,82 \cdot 10^{-5}$  М, рН 4,06) – 4; МА-ВА ( $4,82 \cdot 10^{-5}$  М по звену МА, рН 4,08) – 5; NaOH ( $(0,6 \div 1,4) \cdot 10^{-4}$  М, рН 5,9 ÷ 6,9) – 6

Сопоставление электронных спектров В<sub>1</sub> с различными добавками (рис. 2б) показало, что все они имеют две перекрывающиеся полосы, с максимумами при ~235 и 266 нм. Введение в раствор кислотных или щелочных добавок приводит к батохромному или гипсохромному

сдвигу первой полосы в пределах до 231 или 243 нм соответственно, тогда как положение второй оказалось мало чувствительным к изменению рН среды (рис. 3а). Интересно, что при увеличении рН в диапазоне от 3,6 до 5,0 наблюдается практически линейная зависимость величины  $\Delta\lambda$  от рН, а при дальнейшем росте рН до 7 величина  $\Delta\lambda$  остается неизменной (рис. 3б).

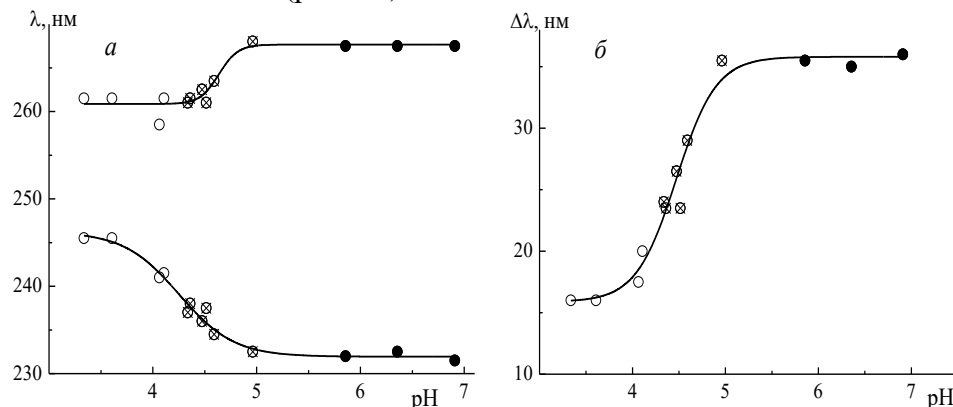


Рис. 3. Зависимость длины волны в максимумах поглощения (а) и разности между ними (б). Приведены данные для растворов В<sub>1</sub> ( $5,98 \cdot 10^{-5}$  М) без добавок (⊗), с добавками НСl (○) и NaOH (●)

Следует отметить, что к смещению полосы  $\sim 235$  нм приводит введение NaOH в количестве, эквивалентном содержанию В<sub>1</sub> (рН 5,9), и дальнейшее увеличение количества добавляемой щелочи не изменяет вид спектра. Это могло бы быть следствием установления равновесия в процессе гидролиза тиазольного ядра до тиольной формы [2–6, 8], как показано на рис. 1, однако данный эксперимент проведен в мягких условиях. Здесь можно ожидать только равновесия между протонированной и нейтральной формами.

Уменьшение рН раствора вследствие введения добавки соляной кислоты приводит к увеличению поглощения по обеим полосам, тогда как при добавлении щелочи величина поглощения полосы  $\lambda_{\max} = 268$  нм уменьшается, причем спектры растворов с рН от 6 до 7 совпадают. Таким образом, при переходе от рН 4,5 к рН 5,9 происходят изменения в поглощении витамина В<sub>1</sub>, а дальнейший рост рН до 6,9 не оказывает влияния на поглощение.

При введении добавки ЯК или сополимера ( $4,82 \cdot 10^{-5}$  М) наблюдается смещение по коротковолновой полосе – на 5-6 нм в область больших длин волн, по длинноволновой полосе – на 3-5 нм в область меньших длин волн (спектры 4 и 5, рис. 2б). Это несколько меньше, чем наблюдается в присутствии добавки НСl, обеспечивающей такое же значение рН раствора (ср. спектр 2, рис. 2б). В то же время

введение кислотных добавок при одном рН приводит к некоторому росту интенсивности поглощения раствора в ряду: МА-ВА > ЯК > НСІ. Это означает, что изменения в поглощении  $V_1$  происходят не только за счет изменения рН среды и связанного с этим протолитического равновесия, но и возможной упорядоченной организации катионов  $V_1$  при связывании с димерным и особенно с полимерным анионом.

Поскольку сополимер МА-ВА обладает собственным поглощением в УФ области (широкая полоса с  $\lambda_{\max} \sim 208$  нм), то для уточнения его влияния на  $V_1$  провели дифференциацию спектров. Если из суммы оптических плотностей растворов  $V_1$  и сополимера вычесть оптическую плотность раствора их смеси, то видно, что наблюдается рост плотности при  $\lambda \sim 249$  нм и снижение при  $\lambda \sim 227$  и 283 нм (рис. 4). При таком подходе максимумам на спектре  $V_1$  (рис. 2) соответствуют изобестические точки.

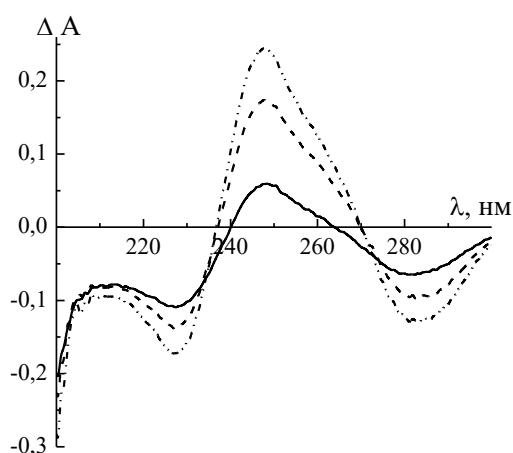


Рис. 4. Дифференциальные спектры поглощения витамина  $V_1$  в присутствии добавки сополимера МА-ВА ( $4,82 \cdot 10^{-5}$  М по звену МА);  $[V_1] \cdot 10^5$ , М: 4,0 – 1; 8,0 – 2; 12,0 – 3

Разделение контура спектра на отдельные полосы, выполненное в программе Origin, показало наличие третьей полосы с  $\lambda$  210 нм (третья изобестическая точка на рис. 4), на положение которой также несущественно влияет рН среды в диапазоне 3,3 – 6,9 (табл. 1).

Экспериментально определенная интенсивность поглощения по каждой из полос, как и найденная по данным разделения контура спектра, линейно зависит от концентрации  $V_1$  в растворе, т.е. подчиняется закону Бугера-Ламберта-Бера в диапазоне концентраций  $2 \cdot 10^{-5} - 1,2 \cdot 10^{-4}$  М, в том числе в присутствии и сополимера МА-ВА, и

янтарной кислоты (рис. 5а). Более того, такая же зависимость найдена и для величин площади выделенных пиков (рис. 5б). Данные по коэффициентам поглощения представлены в табл. 1.

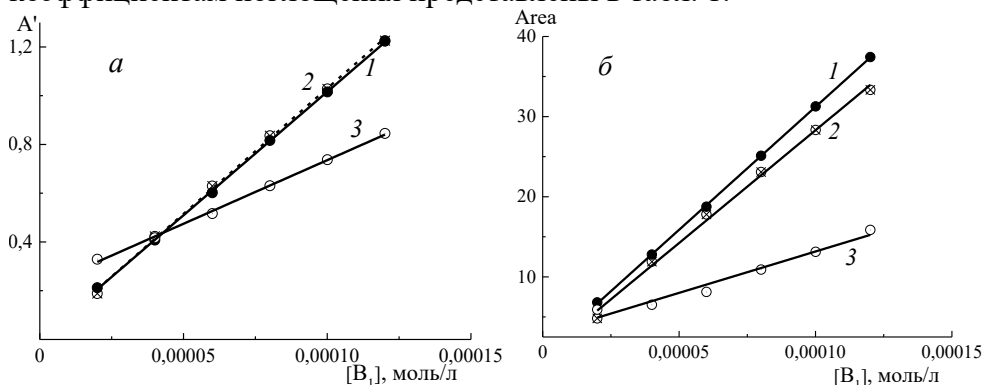


Рис. 5. Зависимость высоты (а) и площади (б) пиков от концентрации витамина В<sub>1</sub> в присутствии добавки сополимера МА-ВА ( $4,82 \cdot 10^{-5}$  М);  $\lambda_{\text{max}}$ , нм: 265 нм (1а, 1б), 235 нм (2а, 2б), 210 нм (3а, 3б)

Т а б л и ц а 1

Характеристика спектров водных растворов витамина В<sub>1</sub>  
без и в присутствии добавок

Показатель <sup>1)</sup>	Без добавки	ЯК ( $4,82 \cdot 10^{-5}$ М)	сополимер ( $4,82 \cdot 10^{-5}$ М)	NaOH ( $(0,6 \div 1,4) \cdot 10^{-4}$ М)
рН	5,0 – 4,3	4,3 – 4,0	4,3 – 4,0	5,9 – 6,9
Визуальное разделение на 2 полосы				
$\lambda_1$ , нм	232,5–238	239–242	239–242,5	231,5–232,5
$\lambda_2$ , нм	263,5–261	258,5–257	263,5–260	267,5
$\varepsilon_1 \cdot 10^{-4}$	1,11±0,02	1,19±0,01	1,28±0,01	1,18
$\varepsilon_2 \cdot 10^{-4}$	1,05±0,03	1,10±0,01	1,18±0,01	0,87
Результаты разбивки спектра на 3 полосы (Origin)				
$\lambda_1$ , нм	210–211	209–210	211–212	210–211
$\lambda_2$ , нм	232–236	239–240	235–238	231
$\lambda_3$ , нм	266	265	265	267
$\varepsilon'_1 \cdot 10^{-4}$	0,37±0,02	0,45±0,01	0,52±0,01	0,43
$\varepsilon'_2 \cdot 10^{-4}$	1,00±0,02	1,054±0,005	1,03±0,02	1,07
$\varepsilon'_3 \cdot 10^{-4}$	0,91±0,02	0,94±0,01	1,013±0,007	0,84
$a_1 \cdot 10^{-5}$	0,33±0,03	0,55±0,06	1,03±0,09	0,35
$a_2 \cdot 10^{-5}$	3,29±0,09	3,21±0,04	2,82±0,09	2,59
$a_3 \cdot 10^{-5}$	2,84±0,09	2,92±0,02	3,07±0,02	2,06

<sup>1)</sup> Обозначения показателей:  $\lambda$  – длина волны в максимуме поглощения;  $\varepsilon$ ,  $\varepsilon'$  и  $a$  – молярные коэффициенты поглощения, рассчитанные по оптической плотности при  $\lambda_{\text{max}}$ , высоте и площади пиков, разделенных в программе Origin.

Полученные прямолинейные зависимости как экстинкции, так и высоты и площади пиков, найденных после их разделения, свидетельствуют о неизменности состояния молекул В<sub>1</sub>.

При этом для наиболее «подвижной» полосы с  $\lambda \sim 235$  нм при рН 4–7 для растворов В<sub>1</sub>, вне зависимости от наличия и природы добавки, коэффициент экстинкции  $\epsilon'$ , найденный величине высоты разделенных полос А', совпадает в пределах погрешности. Напротив, для полос 210 и 266 нм его величина возрастает с концентрацией добавки ЯК и еще значительнее – МА–ВА (на 40 и 11% отн. соответственно). В присутствии сополимера отмечено также 3-увеличение коэффициента  $a$  для полосы 210 нм. Эти факты в совокупности с изменениями поглощения, подтвержденными видом дифференциальных спектров (рис. 4), могут свидетельствовать о взаимодействии В<sub>1</sub> и МА–ВА, например, с образованием устойчивой ионной пары. Введение NaOH, способствующее образованию нейтральной молекулы, в наибольшей степени сказывается на поглощении по полосе 266 нм (табл. 1), которая, видимо, в значительной степени соответствует протонированной структуре.

Методом РМЗ рассчитаны структуры ионных пар (рис. 6), в которых имеется возможность образования водородных связей по нескольким группам как катиона В<sub>1</sub>, так и аниона ЯК. Образование ионной пары сопровождается существенным удлинением связей С–Н и N–H, участвующих в этом процессе (рис. 6).

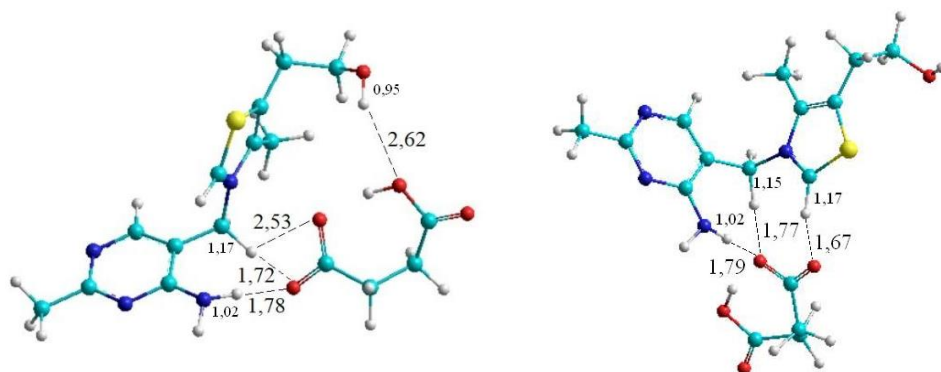


Рис. 6. Структуры ионных пар катиона В<sub>1</sub> с анионом ЯК (цифры указывают расстояние между атомами и длины связей в Å). Расчет методом РМЗ в газовой фазе

Проведенный предварительный расчет указал на bathochromное смещение полос в электронном спектре пар В<sub>1</sub>–ЯК по сравнению с исходным хлоридом (табл. 2). В электронных переходах участвуют  $\pi$ -орбитали групп пиримидина, тиазола в В<sub>1</sub> и карбоксильные группы ЯК

(ВЗМО, Н), тогда как НСМО (L) характеризуются локализацией только на  $V_1$  (n-тип МО).

Сопоставительный расчет ионных пар с анионами  $Cl^-$  или  $OH^-$  при аналогичных конфигурациях  $V_1$  показал наибольший выигрыш энергии при связывании с гидроксидом, что, вероятно, может служить объяснением неизменности спектров  $V_1$  с различными добавками щелочи.

Таблица 2

Основные полосы поглощения ( $\lambda$ , нм), орбитальные компоненты и силы осциллятора, рассчитанные методом РМЗ, для ионных пар витамина  $V_1$  с ионами  $Cl^-$ ,  $YK^-$  и  $OH^-$

$\lambda$ , нм	Компоненты орбиталей <sup>1)</sup>	Сила осциллятора
$V_1^+ + Cl^-$		
286.1	$H - 5 \rightarrow L (-0.686)$	0.1584
266.1	$H \rightarrow L + 1 (-0.373), H - 4 \rightarrow L + 1 (0.451)$	0.1705
<b>255.3</b>	<b><math>H - 2 \rightarrow L + 1 (0.549)</math></b>	<b>0.2650</b>
240.3	$H \rightarrow L + 1 (-0.332), H \rightarrow L + 3 (0.463)$	0.1476
<b>230.3</b>	<b><math>H - 1 \rightarrow L + 4 (0.316), H - 2 \rightarrow L + 3 (0.526)</math></b>	<b>0.2340</b>
$V_1^+ + YK^-$		
<b>253.0</b>	<b><math>H - 1 \rightarrow L + 1 (0.527)</math></b>	<b>0.5369</b>
<b>226.1</b>	<b><math>H \rightarrow L + 2 (0.350), H - 1 \rightarrow L + 3 (0.369)</math></b>	<b>0.2659</b>
225.4	$H \rightarrow L + 1 (0.374), H - 1 \rightarrow L + 3 (0.331)$	0.1180
209.8	$H - 2 \rightarrow L + 2 (-0.463)$	0.1027
$V_1^+ + OH^-$		
<b>259.7</b>	<b><math>H - 2 \rightarrow L + 1 (0.485)</math></b>	<b>0.4381</b>
<b>235.8</b>	<b><math>H - 1 \rightarrow L + 3 (0.342), H - 2 \rightarrow L + 3 - 0.481</math></b>	<b>0.3408</b>
212.1	$H - 2 \rightarrow L (0.451229), H - 2 \rightarrow L + 4 (-0.335)$	0.0093
209.6	$H - 3 \rightarrow L + 2 (0.431), H - 8 \rightarrow L (-0.343)$	0.0731

<sup>1)</sup> Даны основные орбитальные компоненты поглощения для высшей занятой (H) и низшей свободной (L) орбиталей и соответствующие им вклады.

Таким образом, сополимер МА–ВА в водных растворах способен взаимодействовать с тиаминном (витамином  $V_1$ ), что выражается в увеличении коэффициентов поглощения по выделенным полосам в спектре. Однако, это взаимодействие является достаточно слабым, основную роль играет равновесие между протонированной и нейтральной формой молекулы тиамина.



### Список литературы

1. Popescu I., Suflet D.M., Pelin I.M., Chitanu G.C. // Rev. Roum. Chim. 2011. V. 56. № 3. P. 173–188.
2. Maier G.D., Metzler D. E. // J. Am. Chem. Soc. 1957. V. 79. P. 4386–4391.
3. Maier G.D. Structures of thiamine in alkaline solution and studies on a thiamine enzyme: PhD dissertation. 1962. Retrospective Theses and Dissertations.
4. Hopman R.F., Brugoni G.P., Fol B. // J. Am. Chem. Soc. 1982. V. 104. P. 1341–1344.
5. El Hage Chahine J.-M., Dubois J.-E. // J. Am. Chem. Soc. 1983. V. 105. № 8. P. 2335–2340.
6. Pérez-Caballero G., Pérez-Arévalo J.F., Morales-Hipólito E.A., Carbajal-Arenas M.E., Rojas-Hernández A. // J. Mex. Chem. Soc. 2011. V. 55. № 2. P. 126–131.
7. Крюк Т.В., Шевчук Н.О., Тюрина Т.Г., Кобзев С.П. // Вестник НовГУ. 2017. Т. 103. № 5. С. 71–77.
8. Мелентьева Г.А., Антонова Л.А. Фармацевтическая химия. М.: Медицина, 1993. 398 с.

## EXPERIMENTAL AND QUANTUM-CHEMICAL STUDY OF THE INTERACTION BETWEEN VITAMIN B<sub>1</sub> AND THE MALEIC ANHYDRIDE COPOLYMER

**T.G. Tyurina, N.O. Shevchuk, O.M. Zarechnaya, T.V. Kryuk**

Litvinenko Institute of Physical Organic and Coal Chemistry, Donetsk

The effect of additions of maleic anhydride with vinyl acetate copolymer and succinic acid on the absorption of thiamine hydrochloride (vitamin B<sub>1</sub>) in aqueous solutions in the pH range 3–7 was studied. The effect of solution pH on the spectral characteristics of thiamine is shown. It was found that the copolymer and succinic acid have a similar effect on the structural equilibrium of thiamine, equally increasing the extinction coefficients for both absorption bands. Comparative calculation (PM3) ion pairs B<sub>1</sub> optimal configuration with succinic acid anions, Cl<sup>-</sup> or OH<sup>-</sup> showed the highest energy gain when bound to a hydroxyl that can probably explain the invariability B<sub>1</sub> spectra with different additions of alkali.

**Keywords:** *vitamin B<sub>1</sub>, copolymers of maleic anhydride, electronic spectra, quantum-chemical calculations.*

*Об авторах:*

ТЮРИНА Татьяна Григорьевна – доктор химических наук, заведующий отделом исследований радикальных реакций ГУ «Институт физико-органической химии и углехимии им. Л. М. Литвиненко» (Донецк), e-mail : [t\\_tiurina@mail.ru](mailto:t_tiurina@mail.ru)

ШЕВЧУК Наталья Олеговна – аспирант заочной формы обучения, младший научный сотрудник, ГУ «Институт физико-органической химии и углехимии им. Л. М. Литвиненко» (Донецк)

ЗАРЕЧНАЯ Ольга Михайловна – кандидат химических наук, научный сотрудник, ГУ «Институт физико-органической химии и углехимии им. Л. М. Литвиненко» (Донецк).

КРЮК Татьяна Владленовна – кандидат химических наук, научный сотрудник, ГУ «Институт физико-органической химии и углехимии им. Л. М. Литвиненко» (Донецк)

Поступила в редакцию 15 мая 2019 г.