

УДК 544.169  
DOI 10.26456/vtchem2020.2.4

## ИССЛЕДОВАНИЕ ТЕРМИЧЕСКИХ ХАРАКТЕРИСТИК КОМПЛЕКСА ЕВРОПИЯ(III) С ВЫСОКОМОЛЕКУЛЯРНЫМ ГЕПАРИНОМ

М.И. Скобин, Т.В. Крюков, М.А. Феофанова, Н.В. Баранова

ФГБОУ ВО «Тверской государственный университет», г. Тверь  
Синтезировано твердое комплексное соединение высокомолекулярного гепарина с европием (III) ( $[\text{EuHep}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ ). Проведен синхронный термический анализ  $[\text{EuHep}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$ . Определены термическая устойчивость, температура дегидратации и количество кристаллизационной воды, количество металла в комплексе. Описаны наиболее значимые стадии термодеструкции и на основе данных ИК-спектроскопии предположены образующиеся продукты.

**Ключевые слова:** гепарин, РЗЭ, комплекс, ДСК, ТГ.

Лантаноиды, в большей степени соединения лантаноидов, используются в медицине с 19 века и в последнее время интерес к этим соединениям возрос. 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 [1, 2].

Из всего перечня фармакологических свойств лантаноидов, стоит выделить их высокую антикоагулянтную активность. При внутривенном введении растворов солей РЗЭ эффект наступает практически мгновенно и продолжается в убывающей степени около суток. Данное свойство лантаноидов объясняется их способностью заменять кальций в различных тканях и биологически значимых соединениях. На этом механизме основано и лечение заболеваний костей, в частности остеопороза [3, 4].

Гликозаминогликаны – линейные сополимеры, состоящие из замещенных повторяющихся дисахаридных звеньев D-глюкозамина и уроновой кислоты. Гепарин – высокосульфатированный

гликозаминогликан и его основными заместителями являются О-сульфаты и N-сульфонаты (рис. 1) [5].

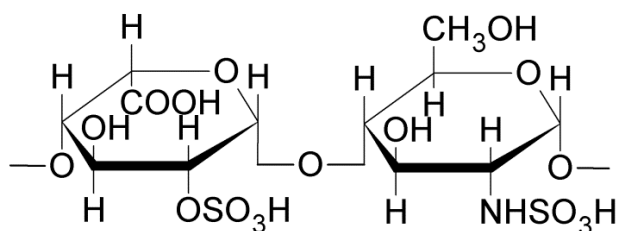


Рис. 1. Структурная формула мономерного звена гепарина

Высокомолекулярный гепарин используется в клинической практике в качестве антикоагулянта на протяжении десятилетий. 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 [3].

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. Многочисленные исследования, проводимые ранее, показали, что гепарин способен образовывать комплексы с рядом неорганических и органических катионов, в том числе и с лантаноидами. Связываясь с гепарином, эти вещества могут менять свою активность (например, усиливая или ослабляя свои типичные эффекты), или кардинально изменять свои функции [3]. Известно, что молекулярные комплексы гепарина с аминокислотами или лантаноидами, обладают мощным антикоагулянтным эффектом [6]. Поэтому синтезу и исследованию комплексных соединений гепарина с редкоземельными элементами представляет значительный научный и практический интерес.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

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

Средний комплекс гепарината европия был получен смешением растворов хлорида европия с раствором натриевой соли гепарина в эквивалентных количествах. Добавлением необходимого количества HCl к исходным растворам устанавливали значение  $pH_{opt}$  [7], при котором концентрация средних комплексов максимальна. Во время синтеза поддерживалась температура 37°C.

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

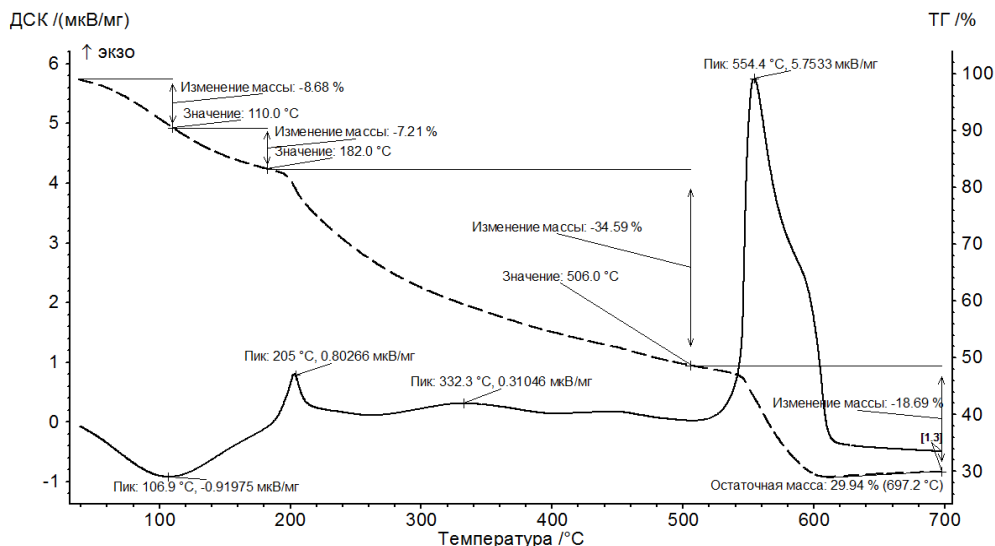
Термогравиметрическое исследование проведено на дифференциальном сканирующем калориметре STA 449F (производитель NETZSCH). Нагрев происходил в атмосфере воздуха.

Количественный анализ образцов был сделан на растровом электронном микроскопе JEOL JSM-6610LV с помощью системы рентгеновского энергодисперсионного микроанализа Oxford INCA Energy 350.

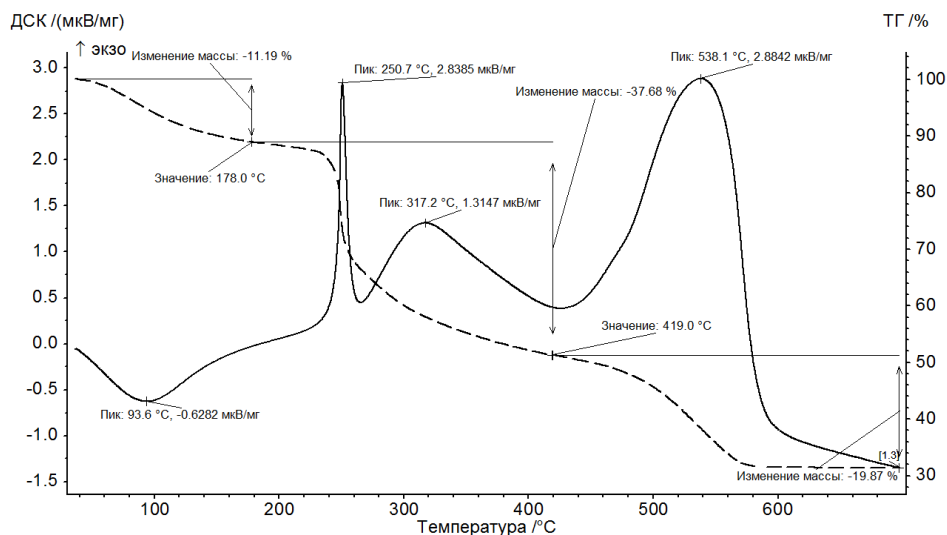
ИК спектры снимали на FT-IR спектрофотометре EQUINOX 55 фирмы Bruker. Образцы для съемки ИК спектров готовили в виде таблеток, которые прессовали из смеси исследуемого вещества и KBr. ИК спектры снимали в диапазоне 450 – 7500  $cm^{-1}$ .

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

При проведении синхронного термического анализа навески натриевой соли гепарина и комплексного соединения  $[EuHep] \cdot 3H_2O$  сжигались до постоянной массы, которая устанавливалась при температуре 700°C. При обсуждении некоторых термических характеристик исходили из соотношения положений тех или иных пиков на дериватограмме комплекса европия с гепарином (рис. 2) в сравнении со спектром натриевой соли гепарина (рис. 3).



Р и с . 2 . Результаты синхронного термического анализа  $[EuHep] \cdot 3H_2O$ . Кривые ТГ (пунктирная) и ДСК (сплошная)



Р и с . 3 . Результаты синхронного термического анализа  $[Na_3Hep]$ . Кривые ТГ (пунктирная) и ДСК (сплошная)

В результате анализа  $Na_3Hep$  деградировал до карбоната натрия, а комплекс европия с гепарином – до  $Eu_2O_3$ . Исходя из вышесказанного, было рассчитано количество металла, входящего в натриевую соль гепарина и его комплексное соединение, тем самым стало возможно получить дополнительную информацию о количественном составе исследуемых образцов. Процентное содержание металлов по массе представлено в таблице 1.

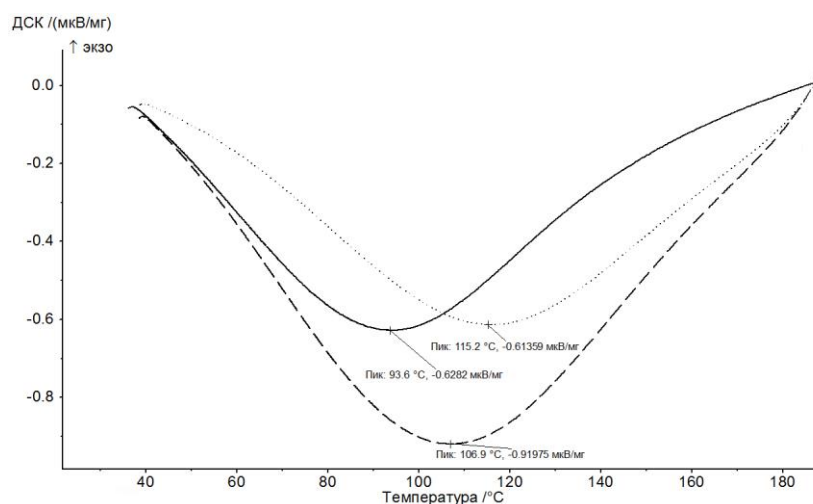
Таблица 1

Данные количественного анализа исследуемых образцов на металл

Образец	Me, % (теор.)	Me, % (практ.) (термогравиметрия)	Me, % (практ.) (элементный анализ)
Na <sub>3</sub> Hep	12.25	13.68	12.17
[EuHep]	23.53	25.86	23.16

Анализируя эндотермический пик, соответствующий удалению воды, на кривой ДСК [EuHep]·3H<sub>2</sub>O авторы пришли к выводу, что он является комплексным и процесс состоит из двух стадий: удаление адсорбированной гепарином воды, максимальная скорость (эндотермический пик на кривой ДСК) наблюдается при 93.6°C, удаление кристаллогидратной воды при 115.2°C.

Сложность пика несколько затруднила расчет кристаллогидратной воды. Однако по результатам нескольких дериватографических измерений натриевой соли гепарина было установлено, что адсорбируемое количество воды практически неизменно при постоянной массе образца. Данный факт позволяет определить количество кристаллизационной воды вычитанием графиков (рис. 4.).



Р и с . 4 . Эндотермический эффект (процесс дегидратации) по данным ДСК.  
Кривые [EuHep] (пунктирная), Na<sub>3</sub>Hep (сплошная) и вычитания (точки)

Было установлено, что [EuHep] имеет три химически связанных молекулы воды.

Другой способ расчета количества молекул кристаллизационной воды основывается на том факте, что свободная вода удерживается в образце до 110°C. Этот метод подтвердил результаты, полученные при вычитании графиков.

Для авторов представлял особый интерес второй слева экзотермический пик, как на дериватограмме комплекса, так и на дериватограмме натриевой соли гепарина. По данным ИК-спектроскопии данный пик характеризует деструкцию исследуемых образцов. Термодеструкция комплекса начинается со  $\approx 188^\circ\text{C}$ , а у натриевой соли гепарина  $\approx 225^\circ\text{C}$ . Причиной выявленного свойства предположительно является то, что лантаниды катализируют процесс деструкции. ИК-спектр образца сожженного до  $240^\circ\text{C}$  показал, что образуется преимущественно сульфат европия, и, соответственно, гепарин теряет свои сульфатные группы. Данная стадия - начало деструкции мономерного звена гепарина (рис. 5).

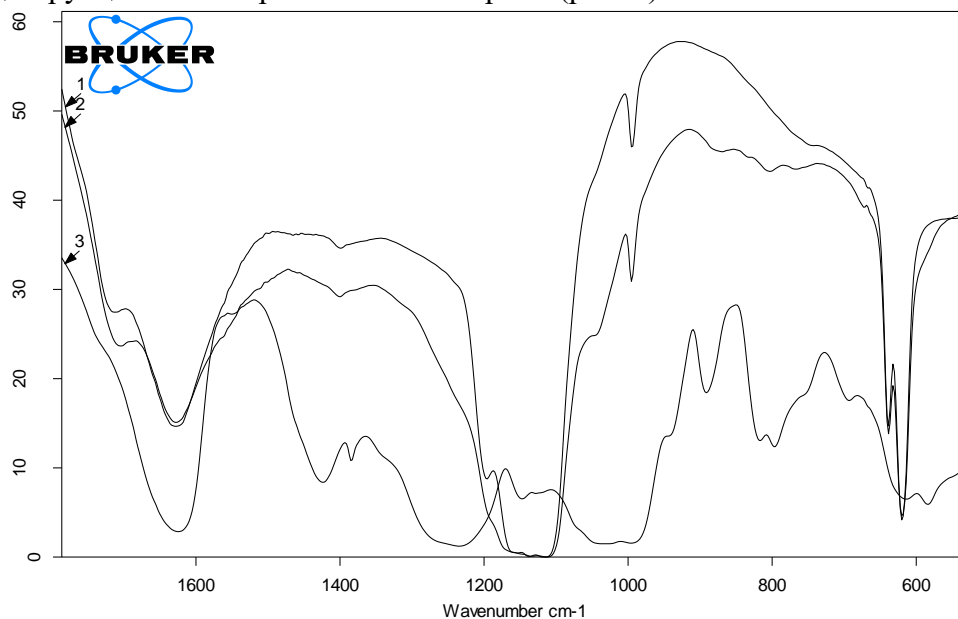


Рис. 5. ИК-спектры комплекса [EuHep]: 1 – нагрев до  $350^\circ\text{C}$ , 2 – нагрев до  $250^\circ\text{C}$ , 3 – без нагрева

Анализируя ИК-спектр 2, можно сделать некоторые выводы о том, каким образом происходит термодеструкция комплекса [EuHep]. Пользуясь данными работы [8] и таблицы 2, авторы проанализировали изменение ключевых полос пропускания в спектре 2 относительно спектра 3.

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

Полосы Na <sub>4</sub> HeP, см <sup>-1</sup>	Полосы комплекса, см <sup>-1</sup>	Расшифровка	Источник для гепарина
3443	3414	-O-H (полиассоциаты) (вал.)	[8]
1625	1631	H <sub>2</sub> O (деф.), C=O (вал., асимметр.)	
1424	1439	C=O (вал., симметр.)	
1235	1228	S=O (вал., асимметр.)	
1026	1033	S=O (вал., симм.)	
893	888	C-O-C (вал., асимметр.) и C-O-S	
799	795	C-O-S 2-о-сульфо	
618	608	S=O	

Первое – это появление полосы в области 1700 см<sup>-1</sup> и уменьшение интенсивности полосы 1439 см<sup>-1</sup>, что может говорить об ионизации связи образованной кислородом карбоксильной группы и одновременном отрыве атома европия.

Отсутствие полос поглощения в области ≈ 1210 см<sup>-1</sup> и полосы ≈ 1040 см<sup>-1</sup>, относящихся к асимметричным и симметричным колебаниям связей S=O внутри сульфатной группировки, свидетельствует об отрыве сульфатной групп от мономерного звена гепарина. Термодеструкцию по сульфатной группе подтверждает появившиеся широкий многокомпонентный пик в области 1150 - 1100 см<sup>-1</sup> и узкий интенсивный пик при ≈ 620 см<sup>-1</sup>, которые принадлежат валентным колебаниям группы SO<sub>4</sub> в солях [9].

Было зафиксировано уменьшение интенсивности полосы валентных ассиметричных колебаний C-O-C ≈ 890 см<sup>-1</sup>. Авторы объясняют этот факт, изменением конформации в мономерном звене гепарина.

ИК-спектры 2 и 3 отличаются несущественно, однако, при их сравнении выяснилось, что в диапазоне от 270 до 420°C происходит разрыв C-O-C связей в каждой точке структуры высокомолекулярного гепарина. Данный процесс сопровождается полным исчезновением характеристического пика C-O-C на спектре.

При температуре ≈ 600°C фиксируется сложный комплексный пик, характеризующий множество физико-химических процессов:

дальнейшая деструкция углеродного скелета, окисление углерода, азота и серы до газообразных веществ, образование оксида европия.

Авторы выражают благодарность за оказанную помощь в проведении исследований отделению физико-химического анализа ЦКП ТвГУ: зав. лабораторией спектроскопии к.х.н. С.Д. Хижняк, инженеру учебно-научной лаборатории «Физико-химические основы нанотехнологий» к.физ.–мат.н. А.И. Ивановой.

### Список литературы

1. Fricker S.P. The therapeutic application of lanthanides // *Chem. Soc. Rev.* 2006. V.35, № 6. P. 524–533. (doi:10.1039/b509608c)
2. Nikolaeva L.S., Semenov A.N., Khomutov A.E. Anticoagulant activity of heparin increased by interaction with terbium ions and complexation with ADP, arginine, glycine and proline: comparative analysis // *Pharm. Chem. J.* 2012. V.46, № 2. P. 75–81.
3. Cotton S.A. Harrowfield J. M. Lanthanides: Biological Activity and Medical Applications. In *Encyclopedia of Inorganic and Bioinorganic Chemistry* // John Wiley & Sons. — Ltd: Chichester, UK. 2012.
4. Evans C.H. *Biochemistry of the Lanthanides* // Springer US, 1990. V. 8. P. 444.
5. Warren C.K., Deirdre R.C. A structural analysis of heparin-like glycosaminoglycans using MALDI-TOF mass spectrometry // *Spectroscopy* 2004. V. 18. P. 185-201. (doi: 10.1155/2004/392536)
6. Чазов Е.И., Лакин К.М. Антикоагулянты и фибринолитические средства // М.: Медицина. 1977. 312 с.
7. Скобин М.И., Крюков Т.В., Феофанова М.А. и др. Комплексообразование в системе  $\text{CeCl}_3 - \text{Na}_4\text{Hep} - \text{H}_2\text{O}$  // *Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. Тверь: Твер. гос. ун-т, 2019. Вып. 2. С. 119-126.*
8. Скобин М.И., Крюков Т.В., Феофанова М.А. и др. ИК-спектроскопическое исследование комплексного соединения церия (III) с высокомолекулярным гепарином // *Вестник Тверского государственного университета. Серия: Химия. – Тверь: Твер. гос. ун-т, 2019. Вып. 4. С. 125-131.*
9. Periasamy A., Muruganand S., Palaniswamy M. Vibrational studies of  $\text{Na}_2\text{SO}_4$   $\text{K}_2\text{SO}_4$ ,  $\text{NaHSO}_4$  and  $\text{KHSO}_4$  crystals // *Rasayan J. Chem.* 2009. V. 2. P. 981–986.

### Об авторах:

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



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

ФЕОФАНОВА Мариана Александровна – кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой неорганической и аналитической химии ФГБОУ ВПО «Тверской государственной университет», e-mail: Feofanova.MA@tversu.ru

БАРАНОВА Надежда Владимировна – кандидат химических наук, доцент кафедры неорганической и аналитической химии ФГБОУ ВПО «Тверской государственной университет», e-mail: Baranova.NV@tversu.ru

## STUDY OF THERMAL CHARACTERISTICS OF THE EUROPIUM (III) COMPLEX WITH HIGH-MOLECULAR HEPARIN

**M.I. Skobin, T.V. Kryukov, M.A. Feofanova, N.V. Baranova**

*Tver State University*

A solid complex compound of high molecular weight heparin with europium (III) was synthesized. A synchronous thermal analysis of  $[\text{EuHep}] \cdot 3\text{H}_2\text{O}$  was performed. Thermal stability, dehydration temperature and the amount of crystallization water, the amount of metal in the complex are determined. The most significant stages of thermal degradation are described and, based on the data of IR spectroscopy, the products formed are assumed.

**Keywords:** *heparin, rare-earth elements, complex, DSC, TG.*