

ФИЗИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ИССЛЕДОВАНИЯ ХИМИЧЕСКИХ РЕАКЦИЙ

УДК 541.49: 546.657

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ, СОСТАВ И ТЕРМИЧЕСКАЯ УСТОЙЧИВОСТЬ КОМПЛЕКСА НЕОДИМА(III) С ГЕПАРИНОМ

© 2022 г. М. И. Скобин^{1*}, М. А. Феофанова¹, В. М. Никольский¹,
Т. В. Крюков¹, В. Г. Алексеев¹, А. И. Иванова¹

¹Тверской государственный университет, Тверь, Россия

*E-mail: Skobin.MI@tversu.ru

Поступила в редакцию 18.05.2021;

после доработки 09.07.2021;

принята в печать 20.07.2021

Методом pH-метрического титрования при 37°C (фоновый электролит 0.15 М NaCl) исследовано комплексообразование Nd (III) с анионами гепарина. С использованием программы NewDALS-FEK рассчитана константа образования (β) комплекса $[\text{NdHep}]$: $\lg\beta(\text{NdHep}) = 4.28 \pm 0.02$. Комплекс $[\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_3\text{Hep}]_n$ выделен в твердом виде. Его состав определен по результатам рентгеноспектрального электронно-зондового анализа, термогравиметрии, дифференциальной сканирующей калориметрии, ИК-спектроскопии.

Ключевые слова: гепарин, неодим, константа устойчивости, термические свойства, комплексообразование.

DOI: 10.31857/S0207401X22040100

ВВЕДЕНИЕ

Активное изучение физико-химических свойств координационных соединений обусловлено огромной ролью, которую они играют во многих биологических процессах, а также их широким практическим применением в различных сферах деятельности человека при соблюдении экологического равновесия в природе. В последние годы установлено, что кластеры золота являются идеальными флюоресцентными метками в биологии и исследованиях окружающей среды [1]. Спектрофотометрическими методами исследования показано, что введение комплексов марганца с тетрафенилпорфирином в состав композиционных материалов придает последним антибактериальные свойства [2]. Показаны также перспективы создания биоразлагаемых композитов на основе кератина и сополимеров сэвилена [3], а также преимущества модификации первичными аминами полифосфатов для повышения водостойкости поликомплексов [4].

Нами получен и изучен ряд биоразлагаемых комплексов, производных аспарагиновой и глутаминовой кислот [5], и в интересах химиков-фармакологов изучены специфические свойства их оптических изомеров при комплексообразовании с биометаллами [6]. В настоящей работе продолжено исследование комплексообразования представите-

лей редкоземельных элементов (РЗЭ), в частности неодима, с гепарином (биополимер H_3Hep группы глюкозаминогликанов, используемый в медицине в качестве антикоагулянта). Ранее было показано, что введение в биосистемы ионов РЗЭ может значительно повысить эффективность антикоагулянтов крови [7]. На примере исследования комплексов гепарина с тербием установлено, что в процессе конкурентного комплексообразования ионов РЗЭ и кальция с белками, ответственными за свертывание крови, возрастает антикоагулянтная активность препарата [8]. Возможность замещения кальция ионами РЗЭ определяется сходством их ионных радиусов и подобием физико-химических характеристик [9].

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для экспериментов использовали фармакологический раствор натриевой соли гепарина ($\{\text{Na}_3\text{Hep}\}_n$) производства Белмедпрепараты (Республика Беларусь), содержащий 38.5 г/л гепарина. Растворы хлорида неодима (III) готовили из навесок соли $\text{NdCl}_3 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$ (Центр технологий “Лантан”, Россия) марки “х.ч.” и стандартизировали методом комплексонометрического титрования с кислородным оранжевым [10].

Таблица 1. Результаты элементного ЕРМА анализа

Элемент	Содержание, %		Количество атомов	
	А	В	А	В
C	23.15	22.78	12	12
N	2.25	4.66	1	2
O	41.16	39.39	16	16
S	10.29	10.74	2	2
Nd	23.15	22.43	1	1

Примечание: А — теоретические параметры, В — практические результаты.

Измерение значений pH проводили с помощью иономера И-160МП, укомплектованного измерительным комбинированным электродом ЭСЛК-01.7 “Аквилон” и автоматическим термокомпенсатором ТКА-1000.1. Точность измерения pH составляла ± 0.01 . Для поддержания температуры в 37°C использовали ультратермостат UTU-2/77.

Твердый комплекс $[\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_3\text{Hep}]_n$ был синтезирован путем смешения растворов NdCl_3 и $\{\text{Na}_3\text{Hep}\}_n$ в эквимольных количествах с последующим доведением объема раствора до 50 мл. Предварительно, по диаграммам распределения комплексных форм, установили оптимальное значение pH синтеза комплексов, равное 4.5. Необходимой кислотности среды добивались путем добавления 0.05 н HCl марки “х.ч.” (АО “База № 1 Химреактивов”, Россия) к натриевой соли гепарина. Приливании ацетона в объемном соотношении 1 : 2 получали гелеобразный осадок, который промывали в ацетоне, отделяли центрифугированием и сушили на воздухе.

Качественный и количественный анализ комплекса был сделан методом ЕРМА с использованием энергодисперсионного микроанализатора Oxford INCA Energy 350 производства компании Oxford Instruments (UK) и растрового электронного микроскопа JEOL JSM-6610LV (Japan). Термический анализ проводили на приборе Netzsch STA 449 F3 Jupiter (Germany) в атмосфере воздуха. ИК-спектры образцов-таблеток с KBr марки “х.ч.” (АО “База № 1 Химреактивов”, Россия) записывали на приборе “Equinox 55” компании Bruker (USA) в диапазоне 450–4000 cm^{-1} .

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Комплексообразование в системе Nd^{3+} – Hep^{3-} исследовали методом pH-метрического титрования. Раствор, содержащий по $1.26 \cdot 10^{-4}$ моль NdCl_3 и $\{\text{Na}_3\text{Hep}\}_n$ (фоновый электролит — 0.15 М физиологический раствор NaCl марки “х.ч.” производства АО “База № 1 Химреактивов”, Россия), титровали 0.05 М раствором HCl. При этом тради-

ционно [11] принимали во внимание, что каждое мономерное дисахаридное звено макромолекулы гепарина ведет себя как обычный низкомолекулярный анион. Константы протонирования рассчитывали из усредненной кривой, используя следующую модель равновесий: $\text{H}^+ + \text{OH}^- \leftrightarrow \text{H}_2\text{O}$, $\text{Hep}^{3-} + \text{H}^+ \leftrightarrow [\text{HHep}]^{2-}$, $\text{Nd}^{3+} + \text{Hep}^{3-} \leftrightarrow [\text{NdHep}]$. В эксперименте учитывалось протонирование Hep^{3-} по карбоксилатной группе.

По кривой титрования и диаграмме распределения комплексных форм установлено, что в изученном интервале pH образуется только монокомплекс $[\text{NdHep}]$, логарифм устойчивости которого $\lg\beta([\text{NdHep}]) = 4.28 \pm 0.02$. Теоретический выход $[\text{NdHep}]$ по результатам pH-метрии и математического моделирования составил 80%.

Результаты идентификации полученного комплекса гепарина с неодимом, осуществленной методом сканирующей электронной микроскопии (за исключением неопределяемых этим методом 16 легчайших атомов водорода), представлены в табл. 1.

Результаты элементного ЕРМА-анализа

По результатам элементного анализа можно надежно определить состав комплекса гепарина с неодимом. Это не касается азота, который этим методом обнаруживается в элементарном безводном комплексе в количестве двух атомов вместо фактического одного. Эта аномалия результата элементного анализа объясняется наличием остаточного количества азота в рабочей камере электронного микроскопа, необходимого для компенсации накапливающегося отрицательного заряда на непроводящем образце комплекса гепарина с неодимом [12].

Для получения информации о структуре координационной сферы комплекса было осуществлено исследование исходного твердого комплекса $[\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_x\text{Hep}]_n$. Термический анализ (рис. 1) показал, что процесс дегидратации комплекса неодима с гепарином начинается уже при температуре 40°C и продолжается вплоть до 190°C. При этом на кривой, полученной методом дифференциальной сканирующей калориметрии (ДСК), при температуре около 100°C наблюдается минимум эндотермического эффекта, что соответствует завершению удаления внешнесферной кристаллизационной воды и переходу к удалению более прочно связанной в комплекс с неодимом внутрисферной воды. Количественно эти процессы оцениваются следующим образом: при общей массе навески комплекса $[\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_x\text{Hep}]_n$ в 21.81 мг масса удаленной из него внешнесферной воды составила 1.39 мг ($1.39/18 = 0.077$ мМ), а внутрисферной — 1.51 мг ($1.51/18 = 0.083$ мМ). Суммарно масса удаленной воды составила 13.29%.

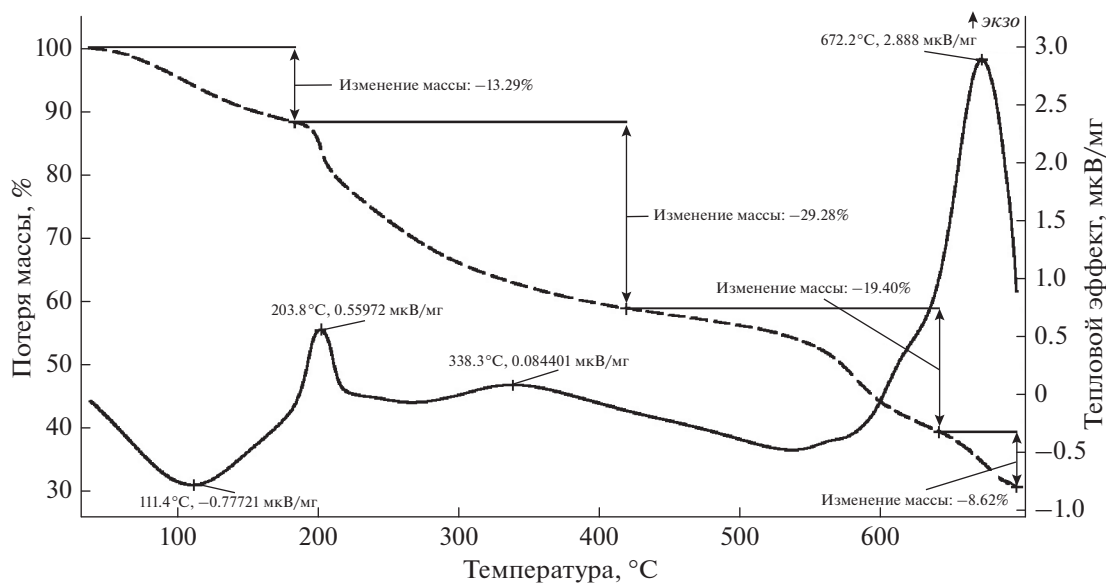


Рис. 1. Результаты синхронного термического анализа $[\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_3\text{Hep}]_n$. Кривые ТГ (штриховая кривая) и ДСК (сплошная кривая).

Масса безводного комплекса $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NdNO}_{16}\text{S}_2$ (638.242 г/моль) составляет $21.81 - 2.9 = 18.91$ мг ($18.91/638 = 0.03$ мМ). Значит мольное соотношение между массами внешнесферной и внутрисферной воды составляет $2.5 : 3$ ($0.077/0.03 : 0.083/0.03$). Тогда брутто-формула внутренней сферы комплекса будет следующей: $[\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_3\text{Hep}]_n$.

После дегидратации при 190°C и вплоть до 420°C наблюдается значительная убыль массы, сопровождаемая появлением экзотермических пиков на кривой ДСК при 203 и 338°C и связанная с разрушением гликозидной связи и углеродного скелета гепарина. Суммарно убыль массы на данном этапе составляет 29.28% (6.4 мг). При этом в процессе термической деградации гепарина образуются газы, смолы, жидкие и твердые побочные продукты, так же как, например, при горении целлюлозы [13].

На следующем этапе термического воздействия часть образующихся летучих фракций при температуре $400\text{--}450^\circ\text{C}$ удаляется (19.4% , т.е. 4.23 мг), а другая часть продуктов горения соединяется с неодимом, образуя неорганические соединения, в том числе и $\text{Nd}_2(\text{SO}_4)_3$. Некоторая часть продуктов горения превращается в карбонизированный остаток (огарок), который способен выдерживать воздействие высокой температуры — до 600°C [14]. Такой огарок темно-серого цвета был обнаружен на поверхности тигля после эксперимента. Вес огарка рассчитывался следующим образом: 161.1 (масса тигля после анализа) — 160.42 (масса тигля до начала анализа) = 0.68 мг.

В ходе дальнейшего разложения (выше 600°C) деструкции подвергается и неорганический продукт $\text{Nd}_2(\text{SO}_4)_3$, образовавшийся после разрушения углеродного скелета гепарина при 300°C . При такой высокой температуре сульфат неодима трансформируется в оксисульфат неодима $\text{Nd}_2\text{O}_2\text{SO}_4$ [15]. Причем авторы работы [16] дифференциально-термическим, термогравиметрическим (ТГ), химическим и ИК-спектроскопическим методами установили, что при температурах выше 620°C должно образоваться устойчивое соединение $\text{Nd}_2\text{O}_2(\text{SO}_4)_{0.6}$. Об этой высокотемпературной трансформации сульфата неодима на кривой ТГ свидетельствуют убыль массы на 8.62% (1.9 мг) и появление экзотермического пика на кривой ДСК при 672°C .

В конечном итоге после полного цикла термогравиметрирования комплекса неодима с гепарином осталось 29.1% (6.35 мг) несгоревшего опытного образца в виде огарка (0.68 мг) и $\text{Nd}_2\text{O}_2(\text{SO}_4)_{0.6}$ ($6.35 - 0.68 = 5.67$ мг). Отсюда следует, что если в моле оксисульфата неодима (377.6 г/моль) на неодим приходится 288 г, то в 5.88 мг оксисульфата неодима содержится $5.67 \cdot 288/377.6 = 4.33$ мг ($4.33/144 = 0.03$ мМ) этого металла. Таким образом, весь неодим из исходных 0.03 мМ комплекса $[\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_3\text{Hep}]_n$ перешел в итоговый оксисульфат неодима $\text{Nd}_2\text{O}_2(\text{SO}_4)_{0.6}$ с содержанием металла, равным 0.03 мМ.

Интерпретацию характеристических полос поглощения в ИК-спектре $[\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_3\text{Hep}]_n$ (рис. 2) проводили по надежным спектральным данным, полученным для натриевой соли гепарина. На

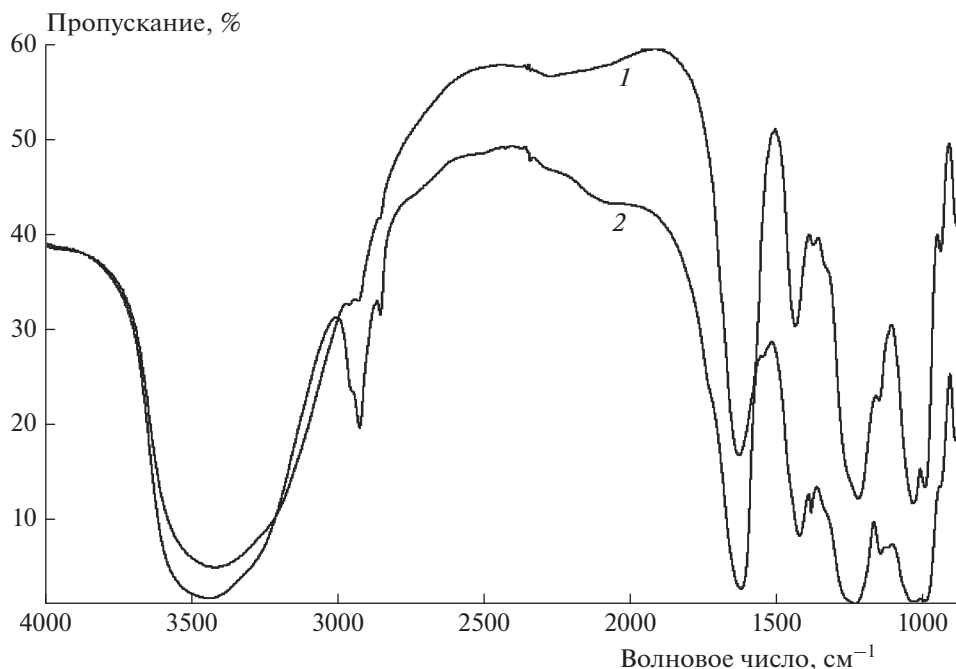


Рис. 2. ИК-спектры $[\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_3\text{Hep}]_n$ (1) и $\{\text{Na}_3\text{Hep}\}_n$ (2).

спектрах 1 и 2 (рис. 2) присутствует широкая полоса в области $3500\text{--}3300\text{ см}^{-1}$, которая соответствует валентным колебаниям связей в функциональной группе О–Н: при 3443 см^{-1} на кривой 2 и при 3418 см^{-1} на кривой 1. На спектре натриевой соли гепарина (кривая 2) обнаружена полоса при 1128 см^{-1} , принадлежащая “изгибным” деформационным колебаниям группы С–О–Н [17, 18]. На спектре комплекса гепарина с неодимом (кривая 1) в диапазоне $1140\text{--}1100\text{ см}^{-1}$ характеристического пика группы С–О–Н не наблюдается, вероятно,

в результате его смещения, вызванного координацией кислорода гидроксильной группы с неодимом.

Установлено, что полоса при 1624 см^{-1} в спектре натриевой соли гепарина принадлежит деформационным колебаниям кристаллогидратной воды [19] и асимметричным валентным колебаниям связи С=О в карбоксилатной группе, а полоса при 1424 см^{-1} характеризует асимметричные валентные колебания связи С=О [17]. Соответствующие по-

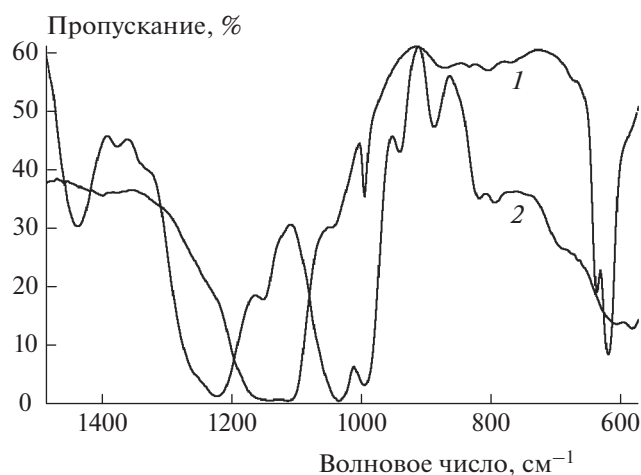


Рис. 3. ИК-спектры комплекса $[\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_3\text{Hep}]_n$: 1 – нагрев до 250°C , 2 – при стандартных условиях.

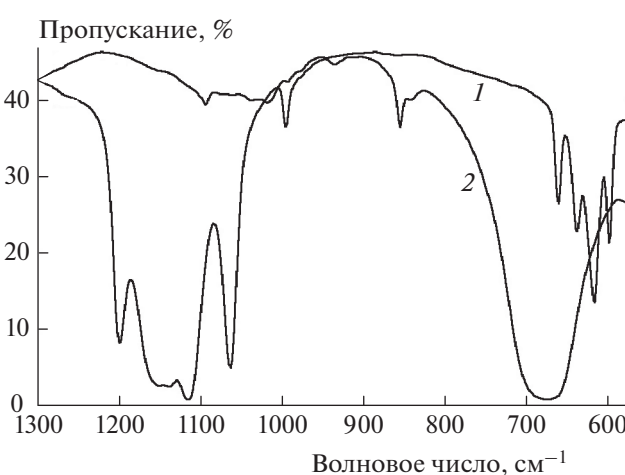


Рис. 4. ИК-спектры сожженного $[\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_3\text{Hep}]_n$ (1) и Nd_2O_3 (2).

лосы есть и в спектре $[\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_3\text{Hep}]_n$ при 1631 и 1438 см^{-1} .

Пики при 1235 и 1026 см^{-1} на спектрах натриевой соли гепарина соответствуют асимметричным и симметричным колебаниям связи $\text{S}=\text{O}$ внутри сульфонатной и аминосульфонатной групп [20]. Для комплекса гепарина с неодимом частоты валентных асимметричных и симметричных колебаний составляют 1227 и 1036 см^{-1} соответственно.

В диапазоне частот ниже 1000 см^{-1} можно выделить валентные асимметричные колебания $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ при 891 (в моносахаридном кольце) и 942 см^{-1} (гликозидные связи) для $\{\text{Na}_3\text{Hep}\}_n$ [17, 18], при 888 и 942 см^{-1} для $[\text{Nd}(\text{H}_2\text{O})_3\text{Hep}]_n$.

ИК-спектроскопическое исследование комплексов гепарина с неодимом при различных температурах также подтвердило выводы об особенностях свойств этого комплекса. Так, исчезновение в спектре при его нагревании до 250°C (рис. 3) полосы валентных асимметричных колебаний гликозидной связи $\text{C}-\text{O}-\text{C}$ свидетельствует о распаде молекулы гепарина на моносахариды с последующим разрушением углеродного скелета и отщеплением карбоксильной, сульфонатной и аминосульфонатной групп, что подтверждается отсутствием их характеристических полос поглощения в спектре 2.

Чтобы исключить сомнения в образовании конечного продукта $\text{Nd}_2\text{O}_3(\text{SO}_4)_{0.6}$ при термическом разложении комплекса гепарина с неодимом, на рис. 4 совместно со спектром исследуемого комплекса при 700°C представлен спектр Nd_2O_3 . При сравнении спектров 1 и 2 очевидно их различие. Наличие в спектре 1 пиков, соответствующих валентным колебаниям группы SO_4^{2-} при 1201 , 1140 , 1117 , 1065 и 997 см^{-1} в сопровождении “изгибных” деформационных колебаний при 662 , 639 , 618 и 599 см^{-1} [16, 21, 22] и отсутствие характерных пиков в этих областях в спектре 2 указывает на образование именно сульфосодержащего соединения.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Установлено, что в системе $\text{Nd}^{3+}-\text{H}_2\text{O}-\text{Hep}^{3-}$ в исследуемом интервале pH образуется только монокомплекс вида $[\text{NdHep}]$, который был выделен из раствора в твердом виде.

Методом элементного ЕРМА-анализа надежно определен состав мономерного звена твердого комплекса гепарина с неодимом и получена его брутто-формула $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{NdNO}_{16}\text{S}_2$, согласующаяся с теоретическими представлениями авторов о составе изучаемого соединения.

Синхронный термический анализ показал, что термодеструкция исследуемого комплекса состоит из трех основных стадий: 1) дегидратации, 2) термо-

деструкции комплексного соединения и разрушения мономерного звена гепарина, 3) образования и превращения неорганических соединений с одновременным выгоранием остатков углерода. В результате анализа дериватограммы определено, что выделенный комплекс содержит во внутренней сфере три молекулы воды.

По данным pH-метрии, синхронного термического исследования, элементного анализа и ИК-спектроскопии установлено, что структурная формула комплексного мономерного звена представляет собой дисахарид, состоящий из остатка идуроновой кислоты и глюкозамина, сульфатированного по amino- и гидроксильной группам, координированный через атомы кислорода карбоксилатной, гидроксильной, сульфонатной и аминосульфонатной групп с ионом неодима (III).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дьяков Ю.А., Яржемский В.Г., Голубков М.Г. // Хим. физика. 2020. Т. 39. № 12. С. 10; <https://doi.org/10.31857/S0207401X20120055>
2. Тертышина Ю.В., Лобанов А.В., Хватов А.В. // Хим. физика. 2020. Т. 39. № 11. С. 52; <https://doi.org/10.31857/S0207401X20110138>
3. Смыковская Р.С., Кузнецова О.П., Волик В.Г., Прут Э.В. // Хим. физика. 2020. Т. 39. № 5. С. 72; <https://doi.org/10.31857/S0207401X20050106>
4. Нечволодова Е.М., Сакович Р.А., Грачев А.В., Ткаченко Л.А., Шаулов А.Ю. // Хим. физика. 2020. Т. 39. № 3. С. 66; <https://doi.org/10.31857/S0207401X20030115>
5. Логинова Е.С., Никольский В.М. // Хим. физика. 2017. Т. 36. № 8. С. 94; <https://doi.org/10.7868/S0207401X1708009X>
6. Биберина Е.С., Никольский В.М., Феофанова М.А. // Изв. АН. Сер. хим. 2020. Т. 69. № 10. С. 1916; <https://doi.org/10.1007/S11172-020-2978-1>
7. Феофанова М.А., Никольский В.М., Егорова И.Ю. // Вестн. ТвГУ. Сер.: Химия. 2003. № 1. С. 123.
8. Николаева Л.С., Семенов А.Н., Мамонтов М.Н., Добрынина Н.А., Феофанова М.А. // ЖНХ. 2008. Т. 53. № 5. С. 890; <https://doi.org/10.1134/S0036023608050252>
9. Николаева Л.С., Семенов А.Н., Хомутов А.Е. // Хим.-фарм. журн. 2012. Т. 46. № 2. С. 9.
10. Пришибил Р. Аналитические применения этилендиаминтетрауксусной кислоты и родственных соединений. М.: Мир, 1975.
11. Карпунин Л.Е., Феофанова М.А., Николаева Л.С., Мамонтов М.Н., Добрынина Н.А. // ЖНХ. 2006. Т. 51. № 6. С. 979; <https://doi.org/10.1134/S0036023606060106>
12. Криштал М.М., Ясников И.С. Сканирующая электронная микроскопия и рентгеноспектральный микроанализ. М.: Техносфера, 2009.
13. Байклз Н., Сегал Л. Целлюлоза и ее производные. Т. 2. М.: Мир, 1974.

14. Плоткина Н.С., Вирник А.Д. // Антибиотики и химиотерапия. 1967. № 3. С. 245.
15. Гризик А.А., Абдуллина Н.Г., Гарифджанова Н.М. // ЖНХ. 1973. Т. 18. № 3. С. 596
16. Сахарова Ю.Г., Борисова Г.М. // Там же. 1976. Т. 21. № 1. С. 76.
17. Devlin A., Mauri L., Guerrini M. et al. // BioRxiv. 2019; <https://doi.org/10.1101/744532>
18. Wiercigroch E., Szafraniec E., Czamara K. et al. // Spectrochim. Acta, Part A. V. 185. 2017. P. 376; <https://doi.org/10.1016/j.saa.2017.05.045>
19. Grant D., Long W.F., Moffat C.F. et al. // Biochem J. 1991. V. 275. P. 93; <https://doi.org/10.1042/bj2750193>
20. Grant D., Long W.F., Frank B.W. // Biochem J. 1987. V. 244. № 1. P. 143; <https://doi.org/10.1042/bj2440143>
21. Periasamy A., Muruganand S., Palaniswamy M. // Rasayan J. Chem. 2009. V. 2. № 4. P. 981.
22. Sifontes A.B., Edgar Canizales E., Toro-Mendoza // J. Nanomater. 2015. V. 2015. P. 8; <https://doi.org/10.1155/2015/510376>