

УДК 544.72:541.183 + 547.992

**С.Л. Хилько, Р.Г. Семенова, В.И. Рыбаченко** (ИнФОУ им. Л.М.Литвиненко НАН Украины)

### **О ВОЗМОЖНОСТИ ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ СОЛЕЙ ГУМИНОВЫХ КИСЛОТ С ВИТАМИНАМИ $B_1$ и $B_6$**

*Калориметрическим и потенциометрическим методами доказана возможность взаимодействия солей гуминовых кислот с витаминами группы В. Это взаимодействие может осуществляться между заряженными группами макроаниона гуминовой кислоты и положительно заряженными группами молекул витаминов.*

*Ключевые слова: калориметрия, потенциометрия, гуматы натрия, витамины, медико-биологические полимеры, доставка лекарств.*

Одним из возможных путей решения проблемы создания лекарственных препаратов с улучшенной системой доставки и способных к пролонгированному действию является использование медико-биологических полимеров [1]. Образование комплексов полимер-лекарство может быть перспективно для разработки систем, обеспечивающих контролируемое выделение лекарственных веществ в организме [2].

Известно, что гуминовые кислоты (ГК) из торфа и бурого угля обладают выраженной биологической активностью (гепатопротекторные, антигипоксические, антитоксические и др. свойства), поэтому Препараты на основе гуминовых кислот считаются перспективными для создания новых лекарственных препаратов с улучшенным терапевтическим эффектом [3, 4].

Целью работы было исследование возможности взаимодействия макромолекул нативного гумата натрия (ГН) с витаминами  $B_1$  и  $B_6$  методами калориметрического и потенциометрического титрования.

#### **Экспериментальная часть**

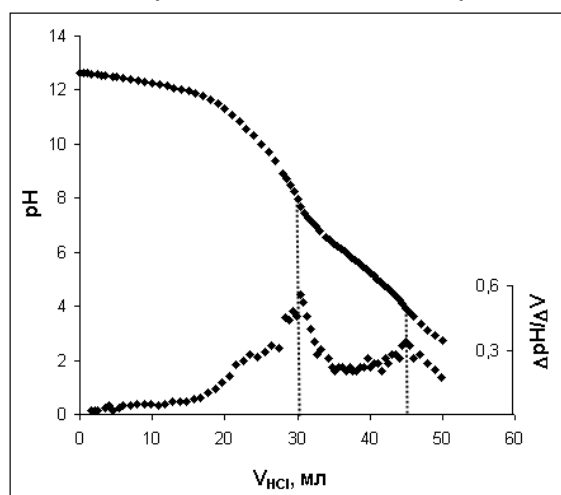
Гуматы натрия (ГН) получали из аналитической пробы бурого угля Александрійського месторождения (Украина), согласно [5]. Средняя молекулярная масса образцов ГН составляет примерно 20000 [6], размер макромолекулы ГН, по данным [7], 4–18 нм. В работе использовали аптечные 5% водные растворы витаминов  $B_1$  и  $B_6$ .

Взаимодействие в системе гумат натрия – витамин определяли путем измерения количества теплоты ( $Q$ , Дж), выделяющейся в ячейке, заполненной 70 мл 1%-го раствора гумата натрия, при добавлении растворов витаминов [8]. Для потенциометрического титрования брали 50 мл 1,0%-го раствора гумата натрия и добавляли 0,1 н. раствор HCl до pH = 2. В другом случае к исходным растворам ГН добавляли 5%-е растворы витаминов. После добавления каждой порции титранта систему перемешивали на магнитной мешалке в течение 5 мин. Равновесные значения pH растворов измеряли на прецизионном pH-метре ОР 205/1.

## Обсуждение результатов

Медико-биологические полимеры могут применяться в качестве носителей лекарственных препаратов, то есть использоваться в качестве своеобразных «паромов». Для этих целей применяют также микро- и наночастицы [11]. Это имеет многочисленные преимущества. Так, например, «нерастворимые» лекарственные препараты могут становиться «растворимыми», если они доставляются «паромами». Лекарства могут быть защищены от деструкции во время их переноса к месту назначения. Комплексы полимер-лекарство активно или пассивно накапливаются в органе-мишени и высвобождают из «паромов» переносимые лекарства контролируемо по дозе и по времени [9, 10]. В качестве медико-биологических полимеров — носителей лекарственных препаратов — используют различные природные и синтетические полимеры, например, на основе полисахаридов, полилактоидов, полиакрилатов и др.

В этой работе мы использовали гушат натрия в качестве природного медико-биологического полимера. В состав макромолекул гуминовых кислот входят карбоксильные и гидроксильные группы, способные к диссоциации.



**Рис. 1.** Кривая потенциометрического титрования гумата натрия ( $C_{\text{ГН}} = 1,0$  мас. %) 0,1 н. раствором HCl и ее дифференциальная форма

Гуминовые кислоты относят к слабым полиэлектролитам. Определенные в [12] константы диссоциации гуминовых кислот из бурого угля Александрийского месторождения составляют: для карбоксильных групп  $K = 1,58 \cdot 10^{-4}$  ( $pK = 3,8$ ), для гидроксильных  $K = 3,16 \cdot 10^{-9}$  ( $pK = 8,5$ ).

На рис. 1 приведена кривая потенциометрического титрования 1%-го раствора гумата натрия 0,1 н. раствором HCl. Точки эквивалентности определяли дифференциальным методом, согласно [13]. Рассчитанное из данных титрования количество функциональных групп, мг-экв/г: для COOH-групп — 2,35 и для OH-групп — 1,23. Количество групп в расчете на одну макромолекулу гумата

натрия составляет:  $-\text{COOH} \approx 50$ ,  $-\text{OH} \approx 25$ .

На рис. 2 приведены структурные формулы витаминов  $B_1$  и  $B_6$ .



**Рис. 2.** Структурные формулы витаминов группы  $B$

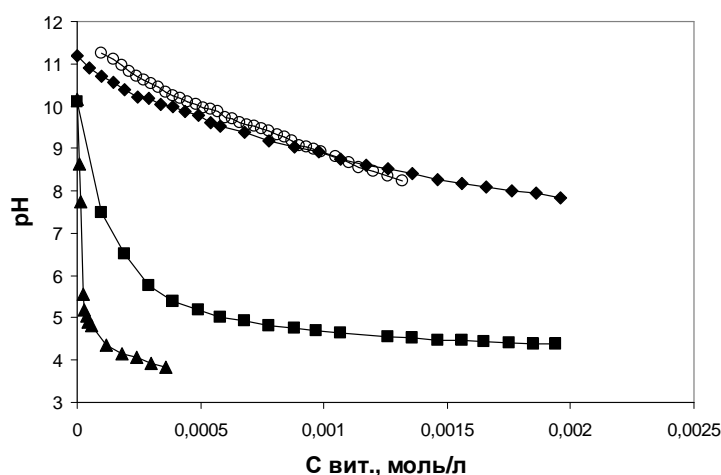


Рис. 3. Кривые потенциметрического титрования растворов 1,0% гумата натрия (о 1,  $\blacklozenge$  2) и 0,0005 М NaOH ( $\blacktriangle$  3,  $\blacksquare$  4) 5%-ми растворами витаминов: 1, 3 –  $B_1$ ; 2, 4 –  $B_6$

осуществляться между заряженными группами макроаниона гуминовой кислоты и положительно заряженными группами молекул витаминов.

В растворах гумата натрия содержится небольшой избыток щелочи, который равен разнице между pH исходного раствора и pH = 10,5. Это связано с тем, что точки эквивалентности определяются титрованием до фиксированных значений pH. Обычно pH = 7,0 считают окончанием титрования карбоксильных групп, а pH = 10,5 — окончанием титрования гидроксильных групп [14, 15]. В исследуемом растворе гумата натрия с  $pH_{исх} = 11,5$  находится избыток щелочи, равный  $5 \cdot 10^{-4}$  М. Чтобы исключить влияние избытка щелочи на результаты калориметрического титрования раствора гумата натрия, мы исследовали возможность взаимодействия витаминов с раствором NaOH. На рис. 4 приведены кривые калориметрического титрования  $5 \cdot 10^{-4}$  М растворов NaOH 5%-ми растворами витаминов. Было показано, что в процессе титрования выделяется тепло. В случае витамина  $B_6$ , содержащего одну молекулу HCl, наблюдается перегиб на кривой титрования при соотношении компонентов 1:1. В случае витамина  $B_1$ , в молекуле которого содержится две молекулы HCl, перегиб на кривой титрования наблюдается при соотношении NaOH: $B_1$  = 2:1, т.е. одна молекула витамина реагирует с двумя молекулами щелочи.

В этой связи при исследовании взаимодействия гуматов натрия с витаминами, в исходном щелочном растворе гумата натрия был оттитрован избыток щелочи 0,1 н. раствором HCl до pH = 10,5. Кривые калориметрического титрования 1,0%-го раствора гумата натрия ( $pH_{исх} = 10,5$ ) 5%-ми растворами витаминов в зависимости от соотношения концентраций витаминов и гумата натрия (моль/л), то есть количества молей витамина на 1 моль гумата натрия,

Очевидно, что взаимодействие макроаниона гумата натрия с витаминами может осуществляться, прежде всего, между заряженными фрагментами их молекул. Кривые потенциметрического титрования 1%-го раствора гумата натрия 5%-ми растворами витаминов  $B$  приведены на рис. 3. Снижение pH раствора гумата натрия в зависимости от концентрации витаминов указывает на взаимодействие молекул витаминов с макромолекулой ГН. Это взаимодействие должно

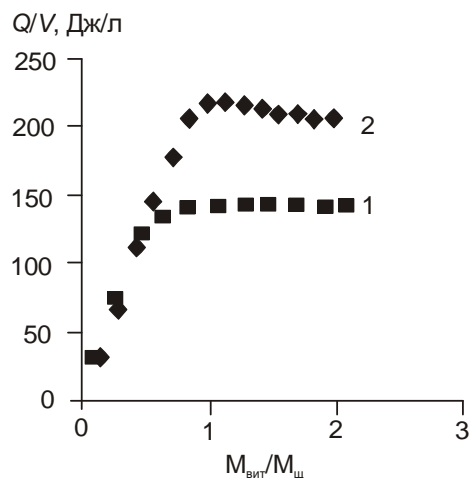
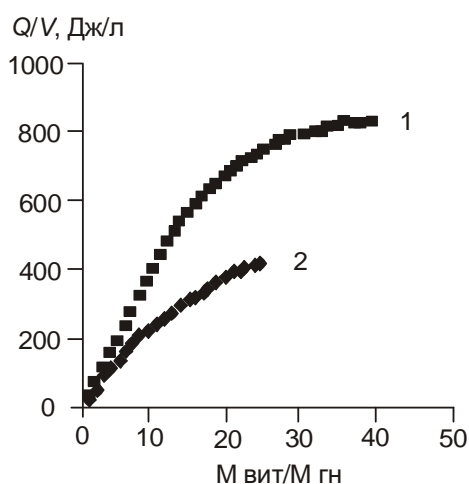


Рис. 4. Кривые калориметрического титрования раствора NaOH растворами витаминов  $B_1$  (1) и  $B_6$  (2)

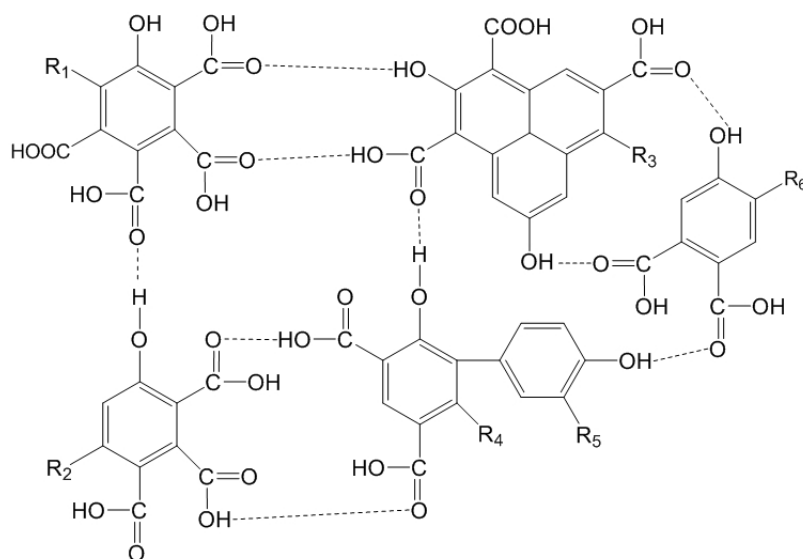


**Рис. 5.** Кривые calorиметрического титрования 1% раствора гумата натрия 5%-ми растворами витаминов группы В: 1 – витамин  $B_1$ , 2 – витамин  $B_6$

приведены на рис. 5. Анализ кривых calorиметрического титрования указывает на возможность взаимодействия одной молекулы ГН с большим числом молекул витамина ( $n$ ) – отношение ГН:витамин может достигать 1:40 для витамина  $B_1$  и 1:25 для витамина  $B_6$ . Величина  $n$ , должна быть связана с количеством активных карбоксильных групп ( $-\text{COO}^-$ ) в макромолекуле ГН. Как следует из данных потенциометрического титрования (рис. 1), в расчете на одну макромолекулу гумата натрия количество функциональных групп, способных к диссоциации, составляет:  $-\text{COOH} \approx 50$ ,  $-\text{OH} \approx 25$ . Это значит, что не все функциональные группы в

макромолекуле гумата натрия принимают одинаковое участие в реакции взаимодействия с молекулами витаминов.

Такое поведение может быть связано с тем, что гуминовые вещества в растворе могут агрегировать [14]. Схема ассоциации между фрагментами молекул ГК по Ghosh и Schnitzer приведена на рис. 6 (по данным работы [15]).



**Рис. 6.** Схема ассоциации между фрагментами макромолекул гуминовых кислот по Ghosh и Schnitzer [15]

Ассоциация гуминовых веществ в растворе может приводить к образованию крупных агрегатов макромолекул. Это определяется способностью макромолекул гуминовых веществ к структурным переходам типа развернутая цепь  $\rightarrow$  статистический клубок. Структурные переходы и агрегация макромолекул гуминовых веществ могут быть вызваны различными факторами, такими, как pH среды, действие сильных электролитов и неэлектролитов, концентрация самих гуминовых веществ в растворе и др. Изменение структуры и агрегация макромолекул гуминовых соединений связаны со степенью диссоциации их функциональных групп ( $-\text{COOH}$  и  $-\text{OH}$ ). В результате агрегации

часть функциональных групп оказывается экранирована фрагментами макромолекул и стерически недоступна для взаимодействия.

Таким образом, калориметрическим и потенциометрическим методами показана возможность взаимодействия солей гуминовых кислот с витаминами группы В. Это взаимодействие может осуществляться между заряженными группами макроаниона гуминовой кислоты и положительно заряженными группами молекул витаминов.

### Литература

1. Валуев Л.И. Полимерные системы для контролируемого выделения биологически-активных соединений / Л.И. Валуев, Т.А. Валуева, Н.А. Платэ // Успехи биол. наук. — 2003. — Т. 43. — С. 307.
2. Sakaguchi H. Preparation and characterization of stimuli-resistible hydrogels nano-coated with polyelectrolyte multilayer films / Sakaguchi H., Serizawa T., Akashi M. // J. Nanosci. Nanotechnol. — 2006. — V. 6–4. — P. 1124.
3. Федько И.В. К вопросу об использовании биологически-активных гуминовых веществ в медицине / И.В. Федько, М.В. Гостищева, Р.Р. Исмадова // Химия растительного сырья. — 2005. — № 1. — С. 49.
4. Гостищева М.В. Химико-фармакологическое исследование нативных гуминовых кислот торфов Томской области... Автореферат дис. канд. фарм. наук. — Пермь, 2008.
5. Хилько С.Л. Влияние сильных электролитов на водных растворы Na-солей нативных и сульфированных гуминовых кислот / С.Л. Хилько, Е.В. Титов, А.А. Федосеева // Коллоид. журн. — 2001. — Т. 63, № 5. — С. 706.
6. Ребачук М.Н. О молекулярных весах гуминовых кислот / М.Н. Ребачук, Л.С. Степаненко, О.Б. Максимов // Химия тверд. топлива. — 1972. — № 2. — С. 10.
7. Shang Ch. . Investigation of humate-cetyltrimethylammonium com-plexes by small-angle X-ray scattering / Shang Ch., Rice J.A // J. Colloid Interface Sci. — 2007. — V. 305. — P. 57.
8. Гольдштейн И.П. Определение теплот образования и констант диссоциации комплексных соединений методом калориметрического титрования / И.П. Гольдштейн, Е. Н. Гурьянова, И.П. Карпович // Журн. физ. химии. — 1965. — Т. 39, № 4. — С. 932.
9. Нанобиотехнологии за рубежом: взгляд экспертов (По материалам сайта «Наука и технологии РФ» [www.strf.ru](http://www.strf.ru)) // Российские нанотехнологии. — 2008. — Т. 3. — № 3–4.
10. Nahar M. Functional polymeric nanoparticles: an efficient and promising tool for active delivery of bioactives / Nahar M., Dutta T., Murugesan S. et al. // Crit. Rev. Ther. Drug Carrier Syst. — 2006. — V. 23, № 4. — P. 259.
11. Medvedeva N.V. Nanobiotechnology and nanomedicine / Medvedeva N.V., Ipatova O.M., Ivanov Iu.D. et al. // Biomed. Khim. — 2006. — V. 52, № 6. — P. 529.
12. Вехов В.А. Константы диссоциации гуминовых кислот / В.А. Вехов, Л.М. Кузнецова // Химия тверд. топлива. — 1968. — № 2. — С. 121.
13. Скут Д., Уэст Д. Основы аналитической химии. — М.: Мир, 1979. — Т. 1. — 453 с.
14. Piccolo A. Combined effects of an oxidative enzyme and dissolved humic substances / Piccolo A., Camici L. // Int. J. Environ. Anal. Chem. — 1990. — V. 41. — P. 65.
15. Buffle J. The use of ultrafiltration for the separation and fractionation of organic ligands in fresh waters / Buffle J., Deloey M.D., Haendi L. // Anal. Chim. Acta. — 1978. — V. 101. — P. 339.
16. Covelo E.F. Heavy metal adsorption by humic umbrisol: selectivity sequences and competitive sorption kinetics / Covelo E.F., Andrade M.L., Vega F.A. // J. Colloid Interface Sci. — 2004. — V. 280. — P. 1.
17. Ghosh K. Macromolecular structures of humic substances / Ghosh K., Schnitzer M. // Soil Sci. — 1980. — V. 129. — P. 266.

© Хилько С.Л., Семенова Р.Г., Рыбаченко В.И., 2011

Надійшла до редколегії 28.12.2010