

О.М. Бордун, О.З. Дробчак

## ІЧ-спектри поглинання висушених зразків урини без відхилень від норми та з наявністю оксалатних солей

*Львівський національний університет імені Івана Франка, вул. Університетська 1,  
м. Львів, 79000, Україна, тел. (0322) 964-679, e-mail: bordun@electronics.wups.lviv.ua*

Досліджено спектри ІЧ-поглинання сечовини, урини без відхилень від норми та ниркових оксалатних каменів. На основі зсуву частоти валентних коливань карбонільної групи С=О встановлено, що приєднання молекул оксалату кальцію та оксалатних комплексів в урині до сечовини здійснюється через атом кисню сечовини. Показано, що на основі зсуву частоти симетричних коливань  $\nu_s(\text{COO}^-)$  можна судити про наявність молекул чи агрегатів оксалату кальцію. Отримані результати можуть бути використані при розробці нових методів ранньої діагностики різних захворювань.

**Ключові слова:** урина, сечовина, ІЧ-поглинання.

*Стаття постуила до редакції 01.04.2009; прийнята до друку 15.12.2010.*

### Вступ

Спектроскопічні методи дослідження біорідин відіграють важливу роль при дослідженні різних захворювань. Одним з найпоширеніших методів клінічного дослідження є аналіз урини. При цьому статистика показує, що близько 5 % осіб жіночої статі та 12 % чоловічої хворіють нефролітіазом. Крім цього, досить небезпечним є те, що ознаки захворювання проявляються на пізніх стадіях, коли особа потребує інтенсивного медикаментозного лікування або, навіть, інвазивного втручання. В цьому аспекті досить актуальною є проблема ранньої діагностики нефролітіазу.

Перспективною в цьому плані є ІЧ-спектроскопія. Оскільки спектр поглинання зразка є суперпозицією спектрів поглинання його складових, то навіть спектри досить складних сумішей (або систем) можуть бути використані як для якісного, так і для кількісного аналізу досліджуваного зразка. В порівнянні з іншими методами [1,2] використання ІЧ-спектроскопії в клінічних дослідженнях має ряд переваг. Перш за все, з одного ІЧ-спектра можна визначити не лише одне патологічне відхилення систем організму від норми. Використання даного методу не потребує додаткових хімічних реактивів, що здешевлює діагностування. Окрім того, ІЧ-спектроскопія є лінійною вздовж цілого діапазону частот [3]. Використання висушених зразків урини дозволяє виключити не пов'язану з біокомплексами урини воду, що знижує загальний рівень поглинання ІЧ-випромінювання у досліджуваному зразку. При цьому також появляється можливість просторово

локалізувати проведення спектрального аналізу висушеної урини внаслідок її фрагментації при висиханні.

Метою даної роботи було використання методу ІЧ-поглинання для дослідження висушених зразків урини, сечовини, кальцій оксалатних каменів та їх суміші з сечовиною.

### І. Методика експерименту

В роботі досліджувались зразки сечовини, урини без відхилень від норми, ниркові кальцій оксалатні камені та суміш сечовини та ниркових каменів. Всі зразки готувалися і досліджувалися при однакових умовах. Крім того, урина та ниркові камені попередньо діагностувалися біохімічним методом у клінічній лабораторії Львівської обласної спеціалізованої клінічної лікарні.

В якості сечовини використовувалась сировина марки ОСЧ. Кілька крапель розчину сечовини в дистильованій воді наносились на кварцову пластинку, нагріту до 40-45°C.

Для досліджень також використовувались 2-3 краплі урини, які наносились на кварцову пластинку, нагріту до 40-45°C.

Ниркові камені, ідентифіковані як кальцій оксалат ( $\text{CaOx}$ ), розтирались в порошок, після чого до нього було додано дистильовану воду. Отриману суспензію, було розділено на дві частини, в одну з яких додавалась сечовина. Отримані суспензії механічно перемішувались, після чого наносились на кварцові пластинки, нагріті до 40-45°C.

Дослідження всіх вищезазначених зразків проводились після випаровування рідини.

Спектри поглинання в середній та далекій областях ІЧ-спектру отримувались з допомогою інфрачервоного Фур'є-спектрометра моделі Spectrum VX-II виробництва Perkin Elmer, який базується на однопроменевому скануючому інтерферометрі Dynascan з Ge/KBr розподільником. Сигнал реєструвався DTGS - детектором. Спектральна роздільність приладу не менша  $0,8 \text{ cm}^{-1}$ , відношення сигнал/шум більший, ніж 15000/1. Вбудована система Sige Scan перевірки приладу забезпечувала достовірність отримуваних вимірів.

## II. Результати і обговорення

На рис. 1-4 приведені ІЧ-спектри поглинання сечовини –  $\text{CO}(\text{NH}_2)_2$  (I), суміші  $\text{CaC}_2\text{O}_4 + \text{CO}(\text{NH}_2)_2$  (II), кальцію оксалату (CaOx) -  $\text{CaC}_2\text{O}_4$  (III) та сухих залишків урини без відхилень від норми (IV).

В спектрах чітко виділяються смуги, які приведені в таблиці 1.

Оскільки сечовина входить до складу зразків I, II, IV, то логічно припустити, що деякі з виділених смуг спричинені коливними переходами саме в сечовині.

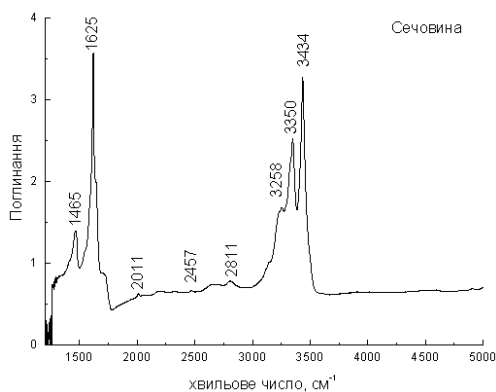


Рис. 1. Спектр ІЧ поглинання сечовини.

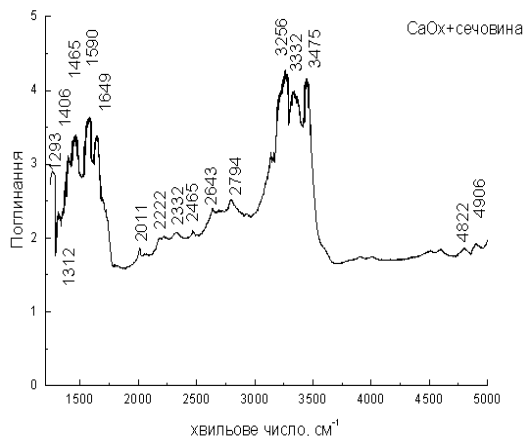


Рис. 2. Спектр ІЧ поглинання суміші сечовини та СаОх.

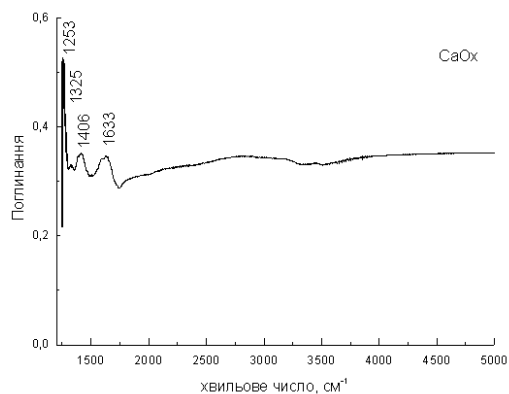


Рис. 3. Спектр ІЧ поглинання СаОх.

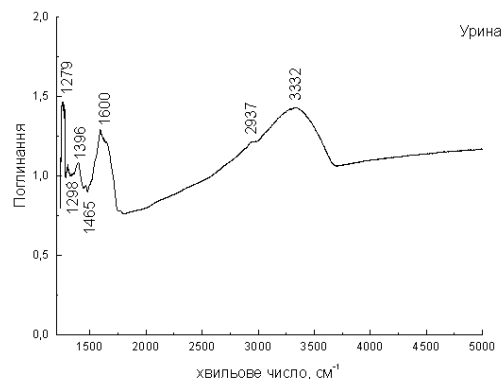


Рис. 4. Спектр ІЧ поглинання висушених зразків урини без відхилень від норми.

Аналіз літературних даних [3, 4, 5] дає змогу проінтерпретувати наступні смуги, які характерні для всіх трьох типів зразків, які формуються коливними переходами в сечовині:

1465  $\text{cm}^{-1}$  (I), 1465  $\text{cm}^{-1}$  (II), 1465  $\text{cm}^{-1}$  (IV) – асиметричні валентні коливання C-N ( $\nu_a(\text{C-N})$ );

1625  $\text{cm}^{-1}$  (I), 1590  $\text{cm}^{-1}$  (II), 1600  $\text{cm}^{-1}$  (IV) – деформаційні коливання  $\text{NH}_2$  ( $\delta(\text{N-H}_2)$ );

1698  $\text{cm}^{-1}$  (I), 1649  $\text{cm}^{-1}$  (II), 1633  $\text{cm}^{-1}$  (III), 1649  $\text{cm}^{-1}$  (IV) – валентні коливання C=O ( $\nu(\text{C=O})$ );

3258  $\text{cm}^{-1}$  (I), 3350  $\text{cm}^{-1}$  (I); 3256  $\text{cm}^{-1}$  (II), 3340  $\text{cm}^{-1}$  (II); 3332  $\text{cm}^{-1}$  (IV) – симетричні валентні коливання N-H<sub>2</sub> ( $\nu_s(\text{N-H})$ );

3434  $\text{cm}^{-1}$  (I), 3440  $\text{cm}^{-1}$  (II) – асиметричні валентні коливання N-H<sub>2</sub> ( $\nu_a(\text{N-H}_2)$ );

4822  $\text{cm}^{-1}$  (II), 4906  $\text{cm}^{-1}$  (II) – комбінація симетричних та асиметричних валентних коливань N-H<sub>2</sub> ( $\nu_s(\text{N-H}_2)$  та  $\nu_a(\text{N-H}_2)$ ) з асиметричними валентними коливаннями C-N ( $\nu_a(\text{C-N})$ ).

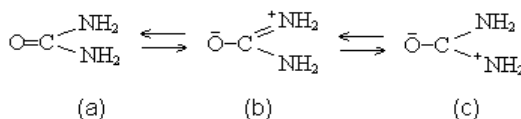


Рис. 5. Резонансна структура сечовини.

Відомо [6], що молекула сечовини утворює резонансний гібрид структур а, б, с (рис. 5).

Така резонансна взаємодія приводить до часткової делокалізації неподілених пар електронів атомів азоту і поляризації  $\pi$ -системи карбонільної групи C=O [5].

У випадку координації через атом азоту вклад структур (б) та (с) зменшується, що приводить до збільшення частоти валентного коливання C=O та зменшення частоти коливання C-N, і відповідно до зсуву смуги валентних коливань C-N в область нижчих енергій. Якщо ж приєднання катіона здійснюється через атом кисню, то зменшується вклад структури (а). Послаблення зв'язку C=O приводить до зменшення частоти валентних коливань C=O, проте може не приводити до значних змін частоти валентних коливань N-H [4].

У випадку суміші (II) та урини без відхилень від норми проходить зсув валентних коливань C=O в низькоенергетичну область відносно їх коливань у чистій сечовині (табл. 1). Це свідчить про те, що приєднання молекули CaOx до сечовини здійснюється через атом кисню. Зсув частоти карбонільної групи  $\nu(C=O)$  в зразку (IV) можна пояснити наявністю в урині цілого ряду катіонів, які також приєднуються до молекул сечовини через атом кисню. Це добре узгоджується зі структурними даними дослідження зв'язування сечовини [7]. В досліджених у даній роботі 26 кристалічних структурах аддуктів сечовини виявлено, що в усіх досліджуваних комплексах катіони зв'язуються з киснем.

Смуги пов'язані з оксалатними комплексами (OOC-COO) проявляються в зразках II, III та в зразку IV – урина без відхилень від норми – оскільки навіть нормальна урина є насиченою оксалатами, які є продуктами метаболізму [8]. Тому на основі [9,10] можна інтерпретувати наступні смуги:

1312  $\text{cm}^{-1}$  (II), 1325  $\text{cm}^{-1}$  (III), 1298  $\text{cm}^{-1}$  (I V) – симетричні коливання  $\text{COO}^-$  ( $\nu_s(\text{COO}^-)$ );

1406  $\text{cm}^{-1}$  (III) – комбінація симетричних коливань  $\nu_s(\text{COO}^-)$  та валентних коливань (CC) ( $\nu_s(\text{COO}^-)+\nu(\text{CC})$ );

1282  $\text{cm}^{-1}$  (II), 1282  $\text{cm}^{-1}$  (III) 1275  $\text{cm}^{-1}$  (IV) можуть бути ідентифіковані як комбінація симетричних валентних частот C=O та деформаційних коливань O-C=O ( $\nu_s(\text{C=O})+\delta(\text{O-C=O})$ ) [4].

Зсув частоти симетричних коливань  $\nu_s(\text{COO}^-)$  в зразках (II) та (IV) спричинений взаємодією оксалатів з сечовиною (II, IV) та катіонами, що наявні в урині (IV). Тому за інтенсивністю та зсувом цієї смуги можна судити про наявність молекул чи агрегатів CaOx.

В спектрі ІЧ поглинання урини без відхилень від норми проявляються смуги з максимумами 1396  $\text{cm}^{-1}$  та 2946  $\text{cm}^{-1}$ , що згідно з [10] спричинені коливними переходами в білках.

В спектрах ІЧ поглинання сечовини та суміші сечовини з CaOx проявляється ряд смуг, які є характерними для обох типів зразків, та ряд смуг, які в сечовині не проявляються. Тому смуги поглинання з максимумами при 2011, 2457 та 2811  $\text{cm}^{-1}$  згідно з

Таблиця 1

Смуги ІЧ поглинання у досліджуваних зразках

$\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (I)	$\text{CaOx}+\text{CO}(\text{NH}_2)_2$ (II)	$\text{CaOx}$ (III)	Урина без відхилень від норми (IV)	Інтерпретація
	1293	1282	1275	$\nu_s(\text{C=O})\oplus\delta(\text{O-C=O})$
	1312	1325	1298	$\nu_s(\text{COO}^-)$
			1396	Поглинання білків
		1406		$\nu_s(\text{COO}^-)\oplus\nu(\text{CC})$
1465	1465		1465	$\nu_a(\text{C-N})$
1625	1590		1600	$\delta(\text{N-H}_2)$
1698	1649	1633	1649	$\nu(\text{C=O})$ ;
			2946	Поглинання білків
2011	2011			$\nu(\text{C-N})\oplus\nu(\text{C-N})$
	2222			$\nu(\text{C=O})\oplus 548 \text{ cm}^{-1}$ (CaOx)
	2332			$\nu(\text{C=O})\oplus 649 \text{ cm}^{-1}$ (CaOx)
2457	2465			$\nu(\text{C=O})\oplus\delta(\text{N-H}_2)$
	2643			$\nu(\text{C=O})\oplus 948 \text{ cm}^{-1}$ (CaOx)
2811	2794			$\nu(\text{C=O})\oplus\delta(\text{N-H}_2)$
3258	3256			$\nu_s(\text{N-H})$
3350	3332		3332	$\nu_s(\text{N-H})$
3434	3475			$\nu_a(\text{N-H})$
	4822			$\nu_s(\text{N-H})\oplus\nu_a(\text{C-N})$
	4906			$\nu_a(\text{N-H})\oplus\nu_a(\text{C-N})$

[11] можна розглядати як обертони валентних коливань  $\nu(\text{C-N})$  з частотою 1010  $\text{cm}^{-1}$  та комбінацію валентних коливань  $\nu(\text{C=O})$  з частотою 1680  $\text{cm}^{-1}$  з деформаційними коливаннями  $\delta(\text{NH}_2)$  з частотою 792  $\text{cm}^{-1}$  і комбінацію валентних коливань  $\nu(\text{C=O})$  з частотою 1680  $\text{cm}^{-1}$  з деформаційними коливаннями  $\delta(\text{NH}_2)$  з частотою 1153  $\text{cm}^{-1}$ . Смуги поглинання з максимумами при 2222, 2332 та 2643  $\text{cm}^{-1}$ , які не є характерними окремо для сечовини та CaOx можуть бути ідентифіковані як комбінація коливань молекул сечовини (валентних коливань  $\nu(\text{C=O})$  з частотою 1680  $\text{cm}^{-1}$ ) та молекул CaOx (частоти 948, 649 та 548  $\text{cm}^{-1}$  [10]). Результати інтерпретації також приведені у таблиці 1.

## Висновки

Таким чином, на основі проведених досліджень виявлено зсув частоти валентних коливань C=O у молекулі сечовини в низькоенергетичну область і стабільність частоти асиметричних валентних коливань C-N при дослідженні комплексів сечовини та урини з оксалатними солями. Це свідчить про те, що приєднання молекул CaOx та оксалатних комплексів, що наявні в урині, до сечовини здійснюється через атом кисню сечовини. Встановлено, що зсув частоти симетричних

валентних коливань  $\nu_s(\text{COO}^-)$  в зразках урини без відхилень від норми та суміші сечовини з оксалатами солями спричинені взаємодією сечовини з оксалатами та катіонами, що наявні в урині. Тому за інтенсивністю та зсувом смуги в області  $1325 \text{ cm}^{-1}$  можна судити про наявність молекул чи агрегатів CaOx.

Отримані результати дозволяють підвищити

діагностичну значимість спектроскопічного аналізу з метою виявлення порушень механізмів гомеостазу, що є актуальним при розробці нових методів ранньої діагностики і лікування різних захворювань.

**Бордун О.М.** – доктор фізико-математичних наук, професор;

**Дробчак О.З.** – аспірант.

- [1] З.С. Вайберг. *Клиническая урология для врача поликлиники*. Медпрактика, Москва. 322с. (2000).
- [2] Н.М. Петрунь, Л.И. Берченко. *Содержание химических веществ в тканях и жидкостях организма человека*. Наука, Москва. 264с. (1964).
- [3] C.V. Eddy, M.A. Arnold. Near-infrared spectroscopy for Measuring Urea in Hemodialysis Fluids // *Clinical Chemistry*, (47), pp.1279-1286 (2001).
- [4] К. Накамото. *ИК спектры и спектры КР неорганических и координационных соединений*. Мир, Москва. 536 с. (1991).
- [5] Ю.А. Пантелеев, А.А. Липовский. Расчеты электронной структуры молекулы мочевины и ее протонированных катионов. 1. Определение места протонирования. Роль электростатического взаимодействия. // *Журнал структурной химии* 17(1), сс. 5-8 (1976).
- [6] В.Г. Броновицкая. *Мочевина в живых организмах*. Из-во Ростовского у-та 82 с. (1970).
- [7] L. Lebioda On the geometry of urea-cation bonding in crystalline urea addacts.// *Acta crystallogr. B* 36 (2) pp. 271-275 (1980).
- [8] David F Putnam. *Composition and concentration properties of human urine*. National aeronautic and space administration. Washington, D.C. 246 p. (1971).
- [9] A. Xie, Y. Shen, D.M. F. Huang, S. Li, L. Chen. Growth of Oxalate Crystals Induced by complex Films Containing Biomolecules // *Cryst.Res.Technol.*, 42(7) pp. 667-672 (2007).
- [10] M.A. Moharram, A. Higazi, A.A. Moharram. Infrared spectra of urine from cancerous bladders // *International Journal of Infrared and Millimeter Waves* 17(6), pp. 1103-1114 (1996).
- [11] Н.С. Антоненко, Я.А. Нугер. Инфракрасные спектры поглощения комплексов мочевины с солями двухвалентных металлов. // *Журнал неорганической химии*, 11(5), сс.1072-1075 (1966).
- [12] В.С. Тиктинский. *Мочекаменная болезнь*. Наука, Москва. 310 с. (2000).

O.M. Bordun, O.Z. Drobchak

## Ir Absorption Spectra of Dried Urine Samples in Case Of Any Deviation in Urine Composition and With the Presence of Oxalate Salts

*Ivan Franko Lviv National University,*

*1, Universytetska Str., Lviv, 79000, Ukraine, tel. (0322) 964-679, e-mail: [bordun@electronics.wups.lviv.ua](mailto:bordun@electronics.wups.lviv.ua)*

IR absorption spectra of urea, urine without any deviation in composition and calcium oxalate calculi were studied. The shifting of stretching vibrations frequency of carbonyl group C=O assert this fact that the oxalate complexes and CaOx molecules join to urea molecules via oxygen atom of urea. The value of this shifting may testify about presence of CaOx molecules or aggregates in urine. Obtained results may be used for developing of new methods of early nephrolithiasis diagnostics.

**Key words:** urea, urine, IR-absorption.