

## ТЕХНОЛОГИИ СТАБИЛИЗАЦИИ АНИОНОВ ЙОДА В БИОМАТРИЦАХ

*А.Л. Даниленко, А.Н. Мамцев, А.В. Акулич, Р.А. Ахмадеева,  
Р.Р. Максюттов, В.Н. Козлов*

Изучены процессы образования комплекса «йод-инулин» и механизмы инкапсулирования 5-йод-6-метилурацила в наноразмерную биodeградируемую матрицу –  $\beta$ -глицирризиновую кислоту с помощью физико-химических методов анализа – ИК-, УФ- и ЯМР-спектроскопии. Проведена оценка наноразмерности синтезированных йодбиоорганических комплексов методом лазерного наноструктурного анализа.

### Введение

Для поддержания здоровья человека особое значение имеет полноценное и регулярное снабжение организма микроэлементами и витаминами. Одним их жизненно важных микроэлементов является йод. Йод является единственным из известных в настоящее время микроэлементов, участвующих в построении гормона щитовидной железы – тироксина. Как известно, в результате недостатка йода у человека возникают нарушения функционирования щитовидной железы, что может способствовать возникновению ряда заболеваний [1]. Внесение йодсодержащих компонентов в продукты питания является прогрессивной технологией и помогает значительно снизить недостаток йода в организме человека. Наиболее интересны соединения, в которых неорганический йод химически связан с органической матрицей. В этой связи нами были разработаны способы получения нанодисперсных композитов «йод-инулин» и «5-йод-6-метилурацил- $\beta$ -глицирризиновая кислота», полученная путем внедрения низкомолекулярного продукта с ковалентно связанным йодом – 5-йод-6-метилурацила – в биodeградируемую органическую матрицу –  $\beta$ -глицирризиновую кислоту (GA) (приоритетная справка на изобретение за № 2013134648/13 от 23.07.2013 г).

ИК-спектры образцов, приготовленных в вазелиновом масле, регистрировались на ИК-Фурье спектрометре «IR Prestige-21 Shimadzu» (Япония), УФ-спектры – на спектрофотометре «Specord-M40» (Германия). Для составления изомольной серии использовали водные растворы йодида калия и инулина с концентрацией  $10^{-3}$  М. Измерения проводились в кварцевых кюветах толщиной 0,5 см при – 20 °С.

Спектры ЯМР  $^{13}\text{C}$  и  $^1\text{H}$  записывали на спектрометре Bruker AV500 с рабочей частотой 125,76 МГц и 500 МГц. Редактирование спектров  $^{13}\text{C}$  проводилось с помощью методики DEPT. Для отнесения сигналов использовались также двумерные спектры гомо- ( $^1\text{H}$ - $^1\text{H}$  COSY) и гетероядерной ( $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC, HMBSC) корреляции. Внутренний стандарт – TMS. Пробы готовились в концентрации 30 мг на 0,5 мл растворителя. Химические сдвиги в спектрах ЯМР  $^{13}\text{C}$ ,  $^1\text{H}$  приведены в м.д. (миллионные доли).

Определение размеров частиц проводилось на приборе «SALD-7101 Shimadzu» (Япония). Рабочий диапазон измерений составлял 10 нм – 300 мкм. Длина волны полупроводникового лазера 375 нм. Измерения проводились в водных растворах с концентрацией 0,5 % (масс.) при постоянном перемешивании по всему объему кварцевой кюветы (7 мл).

Целью исследований являлось изучение процессов образования комплекса «йод-инулин» и инкапсулирования 5-йод-6-метилурацила в наноразмерную биodeградируемую матрицу –  $\beta$ -глицирризиновую кислоту с помощью физико-химических методов анализа, а также оценка наноразмерности данных йодбиоорганических комплексов.

### Результаты исследований и их обсуждение

Инулин представляет собой полисахарид из 20–35 остатков фуранозной и пиранозной природы [2]. В исследуемом образце инулина методом ЯМР  $^{13}\text{C}$  также было показано присутствие в молекуле как углеродных атомов фуранозных остатков, так и ацетальных центров. На это указывает наличие сигналов метиленовых групп в области 60,03–62,08 м.д., которым,

согласно спектрам  $^1\text{H}$ - $^{13}\text{C}$  HSQC, соответствуют протоны при 3,66–3,91 м.д., а также сигналы углеродных атомов метиновых групп в области 90,10–92,41 м.д. и соответствующие им сигналы протонов при 5,37–5,40 м.д.

Исследование методом ЯМР системы, состоящей из инулина и двух йодсодержащих компонентов  $\text{KJ}+\text{J}_2$ , совместное применение которых неоднократно приводило к получению йодированных соединений, не выявило существенных изменений спектральных характеристик между инулином и полученной субстанцией, что свидетельствует об отсутствии в системе ковалентно связанного йода. Однако уширение сигналов как в углеродных, так и в протонных спектрах дало основания предполагать возникновение слабых нековалентных взаимодействий между йодом и молекулой органического соединения.

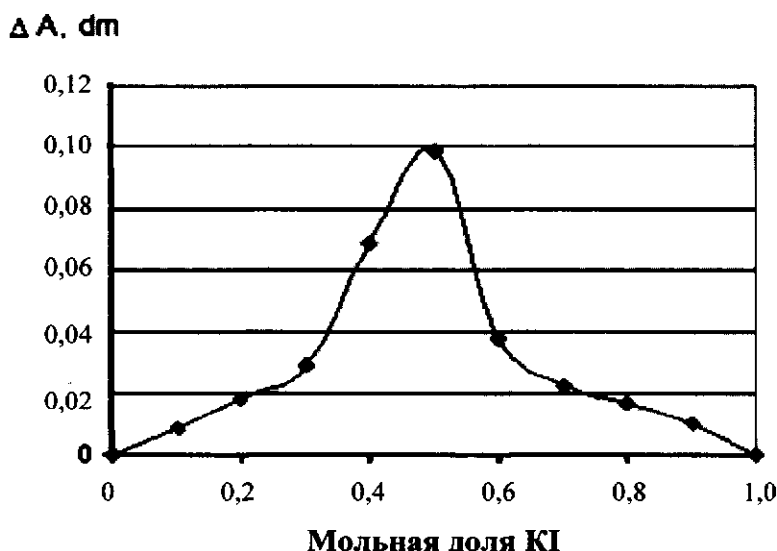
Для более подробного исследования взаимодействий такого рода была изучена спектрофотометрическими методами система инулин – KI. В ИК-спектре инулина (таблица 1) в области 3400–3200  $\text{cm}^{-1}$  наблюдается широкая полоса поглощения с максимумом при 3346  $\text{cm}^{-1}$ , которую можно отнести к валентным колебаниям гидроксильных групп, связанных меж- и внутримолекулярными водородными связями. В спектре соединения инулина с KI эта полоса несколько смещается в длинноволновую область до положения максимума 3370  $\text{cm}^{-1}$ , что может свидетельствовать об изменении характера водородных связей при образовании комплекса. Полосы 1460 и 1380  $\text{cm}^{-1}$  в обоих спектрах относятся к поглощению метиленовых и метильных групп, (в том числе вспомогательного вещества – вазелинового масла). Образование в системе нового соединения подтверждают изменения положения плоскостных деформационных колебаний гидроксильных групп  $\delta\text{OH}$  (область 1274–1185  $\text{cm}^{-1}$ ), групп  $\text{C5}'\text{-O-C1}'\text{-O-C2}$  (1131→1136  $\text{cm}^{-1}$ ), валентных колебаний связей  $\nu\text{C-O}$  эфирных групп и  $\nu\text{C-O(H)}$  вторичных (1060 →1070  $\text{cm}^{-1}$ ) и первичных (1038→1033  $\text{cm}^{-1}$ ) гидроксильных групп, а также деформационных внеплоскостных колебаний  $\delta\text{OH}$ , связанных водородными связями (980→989, 934→936, 869→874, 825→818  $\text{cm}^{-1}$ ).

Таблица 1 – Данные ИК-спектров инулина и его соединения с йодистым калием (IR Prestige-21, Shimadzu, вазелиновое масло,  $\text{cm}^{-1}$ )

Объекты исследования	Предполагаемое отнесение				
	$\delta\text{OH}$ плоск. первичных и вторичных OH-групп	Ацетальные группы	$\nu_{\text{CO}}$ эфирных групп и $\nu_{\text{CO(H)}}$ вторичных гидрокси-групп	$\nu_{\text{CO(H)}}$ первичных гидрокси-групп	$\delta\text{OH}$ внеплоскостных гидрокси-групп
Инулин	1274 1217	1131 пл.	1060 пл.	1038	980 934 869 825
Йод-инулин	1272 1244 1219 1185	1136 пл.	1072 пл.	1033	989 936 874 818

Процесс комплексообразования между молекулами инулина и йодида калия, а также его стехиометрию изучали в водном растворе методом изомольярных серий, который основан на регистрации изменений оптической плотности серии растворов с постоянной суммарной концентрацией компонентов, но с разным их мольным соотношением [3]. Были зарегистрированы УФ-спектры поглощения в области 220–300 нм серии растворов смесей инулина и калия йодида, мольные соотношения в которых изменялись от 0:10 до 10:0. При отсутствии взаимодействия между компонентами оптическая плотность растворов смеси должна представлять собой сумму оптических плотностей компонентов, взятых по отдельности в тех же концентрациях. При наличии взаимодействия наблюдается отклонение от аддитивности. По отклонениям полученных величин оптической плотности от теоретических значений, рас-

считанных с использованием коэффициента экстинкции KI (растворы инулина в используемой концентрации в данной области спектра не поглощают), была построена зависимость их величин от соотношения реагентов в растворе. Как следует из экспериментальных данных (рисунок 1), в рассматриваемом случае наблюдается отклонение от аддитивности, что свидетельствует о наличии взаимодействия в системе. Поскольку максимальное отклонение отмечено при соотношении реагентов 1:1, можно предполагать образование в системе соединения такого состава.



**Рисунок 1– Зависимость изменения оптической плотности растворов изомолярной серии  $\Delta D$  от соотношения компонентов в системе инулин – KI при  $\lambda=231$  нм; исходные концентрации:  $[\text{инулин}] = [\text{KI}] = 1 \times 10^{-3}$  моль/л**

С целью установления места локализации связей, за счет которых происходит взаимодействие между молекулами инулина и йодида калия, были сняты спектры ЯМР инулина и его соединения с йодидом калия в  $\text{DMSO-d}_6$  и в  $\text{D}_2\text{O}$ . Вероятно, диметилсульфоксид, как сильный координирующий растворитель, способен разрушить комплекс инулин-KI, поскольку значимых различий в спектрах исходного и синтезированного соединений не наблюдалось. В то же время в  $\text{D}_2\text{O}$  удалось зафиксировать изменение величин химических сдвигов для ряда сигналов молекулы инулина при образовании комплекса с йодидом калия. Как видно из представленных в таблице 2 данных, взаимодействие с KI происходит в основном при участии первичной и вторичной гидроксильных групп у C(4) и C(6) фруктозного фрагмента. Отмечен также существенный сдвиг сигнала атома C(1), связанного с атомом кислорода в эфирной цепочке. Вносит вклад в образование соединения, вероятно и взаимодействие через первичную гидроксильную группу шестичленного цикла (рисунок 2).

**Таблица 2 – Отнесение сигналов в спектрах ЯМР  $^{13}\text{C}$  инулина и йод-инулина,  $\text{D}_2\text{O}$**

Ci	Химический сдвиг, $\delta$ м.д.											
	C1	C2	C3	C4	C5	C6	C1'	C2'	C3'	C4'	C5'	C6'
Инулин	61,24	103,61	77,21	74,19	80,99	60,79	92,41	73,78	72,50	70,99	73,89	60,03
Йод-инулин	62,37	104,44	77,43	75,16	82,19	61,87	92,71	73,31	72,18	70,28	74,42	60,97
$\Delta\delta$ м.д.	1,13	0,75	0,22	0,97	1,20	1,08	0,30	0,47	0,32	0,73	0,63	0,94

Следующим этапом работы было проведение оценки размеров частиц изучаемого соединения – субстанции «Йод-инулин» – при его распределении в водной среде [4]. При смешивании

вании образца с водой образуются надмолекулярные агрегаты (мицеллы). На рисунке 4 представлены результаты измерения размеров частиц йодбиополимера в виде их распределения по размерам, которые показывают долю частиц с данным диаметром. Данные измерений показывают, что йод-инулин формирует в водных растворах частицы, размер которых колеблется в диапазоне значений от  $1 \cdot 10^{-2}$  до  $3 \cdot 10^{-2}$  мкм.

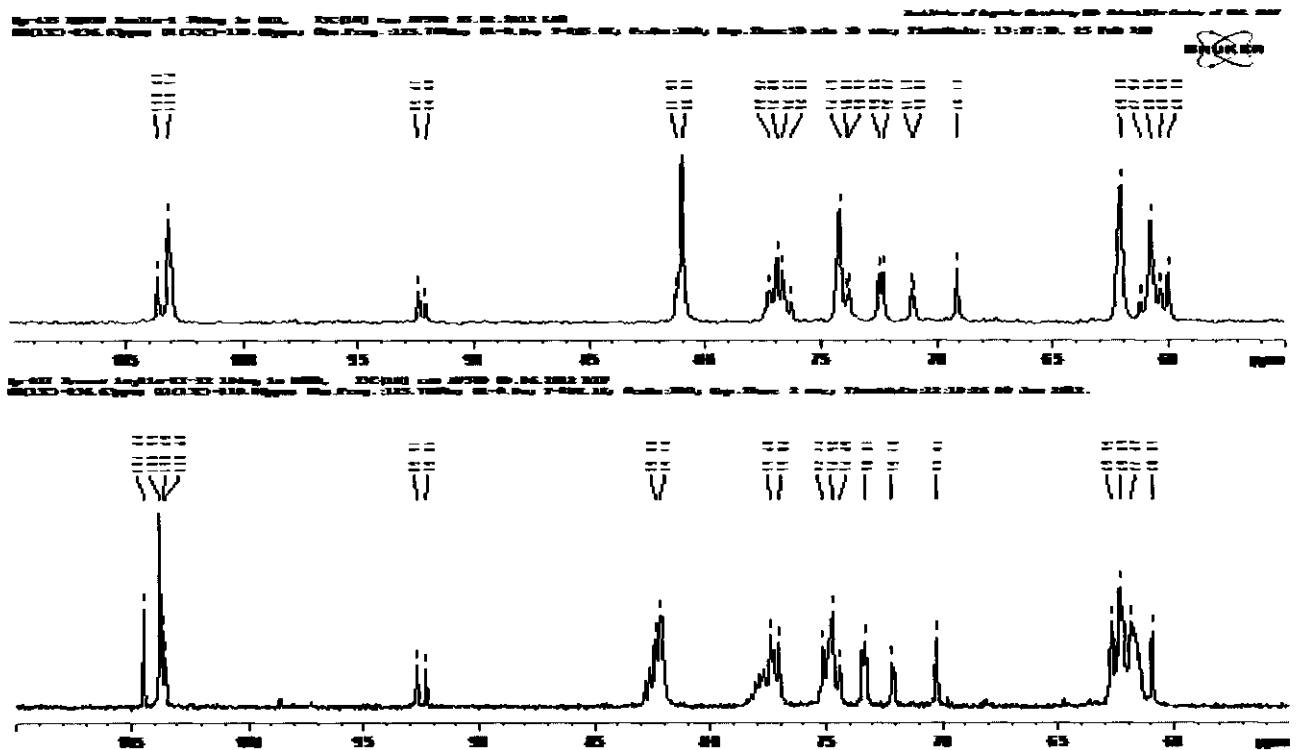


Рисунок 2 – Спектры ЯМР  $^{13}\text{C}$  инулина и инулин+KJ+J<sub>2</sub> в дейтероводе (сверху-вниз)

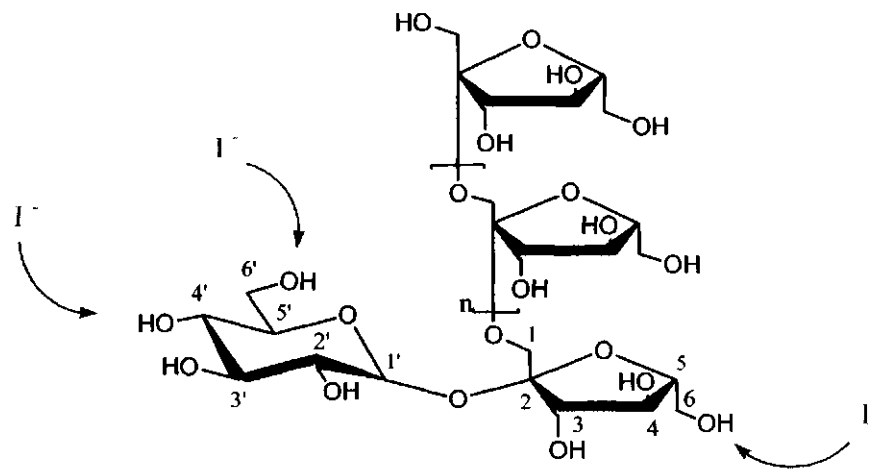


Рисунок 3 – Формула инулина

Образование химической связи между йодом и производным нуклеинового основания – 6-метилурацилом было подтверждено изменениями в ИК-спектрах исходных соединений при образовании клатрата. Так, в спектре синтезированного соединения зарегистрирована новая полоса валентных колебаний (C-I)  $586 \text{ см}^{-1}$ . Полученный вышеизложенным способом низкомолекулярный продукт с ковалентно связанным йодом инкапсулирован в наноразмерную

матрицу –  $\beta$ -глицерризиновую кислоту. Результаты изучения спектров ЯМР 5-йод-6-метилурацила,  $\beta$ -глицерризиновой кислоты и клатрата показали, что изменения в положении сигналов характерны для образования соединений включения, связанных водородными связями. Наблюдаемые сдвиги сигналов в дисахаридном фрагменте молекулы (C3', C6', C6''), а также в агликоновой части (C2, C11, C13, C30) позволяют сделать предположение об образовании клатрата при участии в водородных связях как углеводной части молекулы  $\beta$ -глицерризиновой кислоты, так и ее тритерпенового фрагмента. ИК-спектры в данном случае малоинформативны, поскольку наблюдается наложение полос поглощения глицерризиновой кислоты и 5-йод-6-метилурацила. Однако изменения прослеживаются как в области валентных колебаний карбонильных групп (область 1700–1600  $\text{см}^{-1}$ ), валентных колебаний гидроксильных групп (3500–3100  $\text{см}^{-1}$ ), скелетных колебаний  $\nu\text{C-C}$  в структуре глицерризиновой кислоты (1100–1000  $\text{см}^{-1}$ ), а также деформационных колебаний  $\delta\text{C-OH}$  глицерризиновой кислоты при образовании клатрата. Спектрофотометрическим методом по данным изомольярной серии для системы 5-йод-6-метилурацил (5-I-6-MeUr) –  $\beta$ -глицерризиновая кислота (GA) было зарегистрировано образование клатрата и проведено определение его состава: GA: 5-I-6-MeUr = 2:1. Методами ИК-, ЯМР- и электронной спектроскопии показано, что между 5-йод-6-метилурацилом (5-I-6-MeUr) и  $\beta$ -глицерризиновой кислотой образуется новое соединение. По результатам лазерного наноструктурного анализа установлено, что данный комплекс образует устойчивые водные дисперсии, в которых диаметр частиц составляет 50–350 нм.

Таким образом, синтезированное соединение содержит низкомолекулярный продукт с ковалентно связанным йодом, включенный в биodeградируемую нанокапсулу – глицерризиновую кислоту.

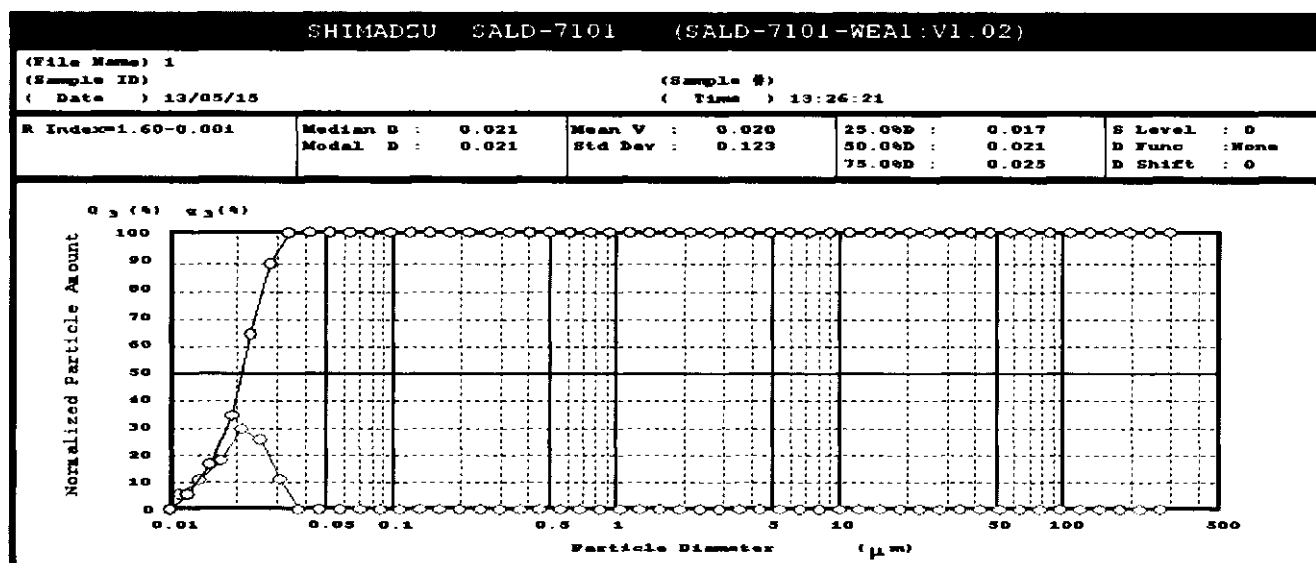


Рисунок 4 – Диаграмма распределения частиц субстанции «Йод-инулин» по геометрическим размерам («SALD-7101 Shimadzu»,  $\lambda=375$  нм, концентрация 0,5 %,  $\text{H}_2\text{O}$ )

### Заключение

Полученные с помощью методов ИК-, УФ- и ЯМР-спектроскопии результаты свидетельствуют о том, что между йодидом калия и инулином образуется соединение с нековалентной связью (субстанция «йод-инулин»). Исследование методом ЯМР-спектроскопии позволило установить, что в образовании комплекса «йод-инулин» участвуют первичная и вторичная гидроксильные группы фруктозного фрагмента инулина, а также первичная гидроксильная группа шестичленного цикла. Показана способность соединения йод-инулин, при его хорошей растворимости в воде, к образованию мелкодисперсных систем, обуславливающих его

агрегативную устойчивость в водных растворах. Сочетание таких свойств делает целесообразным его использование для обогащения цельного молока и кисломолочных продуктов. Методами ИК-, ЯМР- и электронной спектроскопии было показано, что между 5-йод-6-метилурацилом и  $\beta$ -глицирризиновой кислотой образуется новое соединение путем внедрения низкомолекулярного продукта с ковалентно связанным йодом – 5-йод-6-метилурацила – в биodeградируемую органическую матрицу –  $\beta$ -глицирризиновую кислоту. По результатам лазерного наноструктурного анализа установлено, что данный комплекс образует устойчивые водные дисперсии, в которых диаметр частиц составляет 50–350 нм, что может способствовать более полноценному усвоению внедренного микроэлемента.

### **Литература**

- 1 Самсонова, Л.Н. Профилактика йоддефицитных заболеваний в России: современное состояние проблемы / Л.Н. Самсонова, Э.П. Касаткина // Доктор. Ру. – 2010. – № 7 (58). – С. 21–25.
- 2 Назаренко, М.Н., Бархатова, Т.В., Кожухова, М.А., Хрипко, Е.В., Бурлакова, Е.В. Применение инулина в клубнях топинамбура при хранении / М.Н. Назаренко // Научный журнал КубГАУ. – 2013. – № 94 (10). – С.1–10.
- 3 Костромина Н.А., Кумок В.Н. Скорик Н.А. Химия координационных соединений. – М.: Высш. шк., 1990. – 361 с.
- 4 Мамцев А.Н. Оценка нанодисперсности и спектральных характеристик йодбиоорганических соединений / В.Н. Козлов, Е.Е. Пономарёв, Р.Р. Максюттов, С.П. Иванов, А.Н. Лобов, Н.Н. Егорова // Хранение и переработка сельхозсырья. – 2013. – № 8. – С. 39–41.

*Поступила в редакцию 24.12.2014*