



Список литературы

1. Пат. 2058190 РФ, В01J23/745, В01J37/04, В01J23/745, В01J101:62. Способ получения катализатора для сжигания топлива / Сазонов В. А., Прокудина Н. А., Кирчанов А. А., Исмагилов З. Р., Дремин Н. В.; № 94016424/04; заявл. 04.05.1994; опубл. 20.04.1996.
2. Пат. 2323769 РФ, В01D53/00 Способ очистки газовых выбросов и устройство для его осуществления / Золотушкин А. А., Сержантов В. Г.; № 2006128522/15; заявл. 04.08.2006; опубл. 10.05.2008.
3. Пат. 2379596 РФ, F24H6/00. Теплогенератор / Попов П. Н., Кузьмина Р. И.; № 2009102305/06; заявл. 27.01.2009; опубл. 20.01.2010.

УДК 547.459+547.475.2

ОЦЕНКА ХИМИЧЕСКОГО ВЗАИМОДЕЙСТВИЯ ГИДРОХЛОРИДА ХИТОЗАНА С АСКОРБИНОВОЙ КИСЛОТОЙ МЕТОДАМИ ИК- И ЯМР-СПЕКТРОСКОПИИ

О. Н. Малинкина, А. А. Провозина, А. Б. Шиповская

Саратовский государственный университет
E-mail: Olga-Malinkina@yandex.ru



Методами ИК- и ЯМР-спектроскопии проведены оценки химического взаимодействия гидрохлорида хитозана с аскорбиновой кислотой в водном растворе и конденсированном состоянии. Высказано предположение об образовании пространственно сближенного комплекса гидрохлорид хитозана–аскорбиновая кислота посредством взаимодействия между аминогруппами макромолекул полимера и гидроксигруппами молекул кислоты.

Ключевые слова: гидрохлорид хитозана, аскорбиновая кислота, взаимодействие, ИК- и ЯМР-спектроскопия.

Evaluation of the Chemical Interaction between Chitosan Hydrochloride and Ascorbic Acid by IR and NMR Spectroscopy

O. N. Malinkina, A. A. Provozina, A. B. Shipovskaya

The chemical interaction between chitosan hydrochloride and ascorbic acid in aqueous solution and the condensed state by IR and NMR spectroscopy has been performed. The formation of spatially close complex chitosan hydrochloride–ascorbic acid by reaction between the amino groups of the polymer macromolecules and hydroxyl groups of acid molecules has been suggested.

Key words: chitosan hydrochloride, ascorbic acid, interaction, IR and NMR spectroscopy.

Получение водорастворимых производных хитозана расширяет спектр применения этого природного аминополисахарида в биомедицинских областях. Растворимость хитозана в воде зависит от ряда факторов, в числе которых молекулярная масса и степень деацетилирования (СД) полимера, степень протонирования аминогрупп в макромолекуле [1, 2]. Одним из экономически обоснованных способов получения растворимых в воде производных хитозана является его взаи-

модействие с органическими кислотами различной природы [3,4]. Например, взаимодействием с биологически активной аскорбиновой кислотой в водной среде могут быть получены водорастворимые соли – аскорбаты хитозана.

Известно, что аскорбиновая кислота играет важную роль в метаболизме, выступая как акцептор, так и донор протонов в ферментативных системах, благодаря подвижности атомов водорода в енольных гидроксилах при С-3 (рКа = 4.2) и С-2 (рКа = 11.6). Производные аскорбиновой кислоты и некоторых природных аминокислот также показывают широкий спектр биологической активности [5]. Авторы предполагают образование аскорбат аниона за счёт наиболее кислого атома водорода у С-3. Однако аскорбаты, полученные в этой работе в среде абсолютного метанола, негигроскопичны и малорастворимы в воде.

В работе [6] сообщается об образовании комплекса высокомолекулярного хитозана и аскорбиновой кислоты в среде изопропилового спирта и атмосфере азота посредством протонирования аминогруппы наиболее кислым гидроксидом у С-3 (рис. 1, а).

Однако в работе [7] предположили, что в водной среде взаимодействие хитозана (СД = 58 мольн.%) и аскорбиновой кислоты идет по реакции Шиффа с образованием иминной связи $>C=N-$ (см. рис. 1, б). В статье [8] описаны термопластичные производные хитозана, полученные из водных растворов уксусной кислоты, в ИК-спектре которых обнаруживаются полосы поглощения амидной связи $-NH-CO-$ (см. рис. 1, в). Наряду с вышеперечисленными

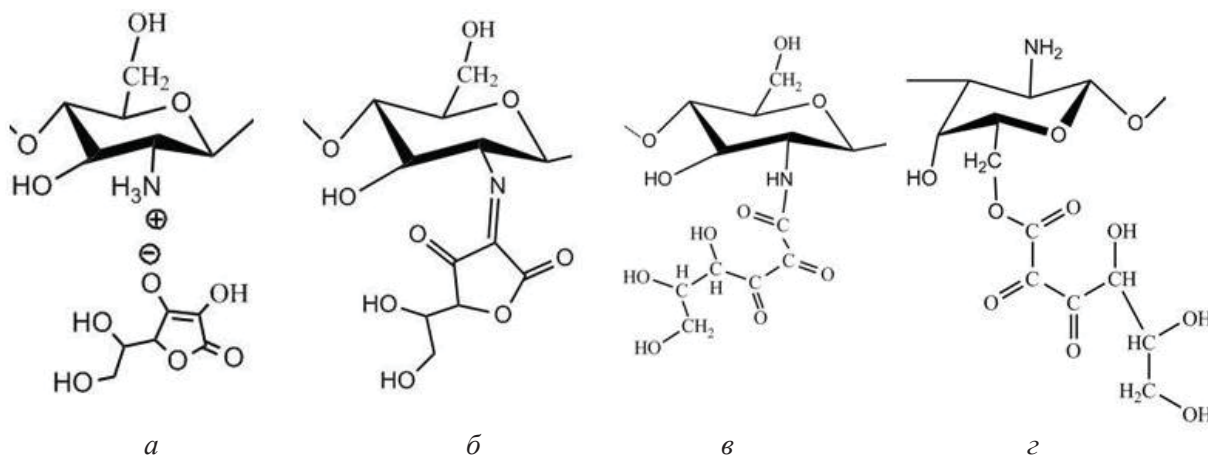


Рис. 1. Варианты взаимодействия звена хитозана (остатка *D*-глюкозамина) и аскорбиновой кислоты посредством образования ионной (*a*) и ковалентных иминной (*б*), амидной (*в*), эфирной связей (*z*) [4–6]

вариантами не исключено и раскрытие лактона в присутствие амина и взаимодействие как по $-\text{NH}_2$, так и по $-\text{OH}$ группам с образованием вторичного амида (см. рис. 1, *в*) и сложного эфира (см. рис. 1, *z*) соответственно.

Таким образом, литературный поиск не даёт однозначного вывода о характере взаимодействия хитозана с кетокислотами – либо происходит образование комплекса с переносом заряда, либо конденсация с образованием имида, амида или сложного эфира.

В связи с этим вызывает интерес получение водорастворимой соли хитозана с аскорбиновой кислотой и оценка химического взаимодействия компонентов методами ИК- и ЯМР-спектроскопии.

Объекты и методы исследования

Объектами исследования служили водные растворы гидрохлорида хитозана ($\text{ХТЗ} \cdot \text{HCl}$) со средневязкостной молекулярной массой 38 кДа, СД = 79 мольн.% производства ЗАО «Биопрогресс» (г. Щелково) и аскорбиновой кислоты производства ЗАО «База №1 химреактивов» (г. Москва) аналитической степени чистоты.

Инфракрасная спектроскопия

Спектры регистрировали на ИК-спектрометре Nicolet 6700 FT-IR (США) с разрешением в 4 см^{-1} , используя усреднение из 32 сканов в диапазоне $4000 \div 500 \text{ см}^{-1}$ методом НПВО.

ИК-спектры записывали для аскорбиновой кислоты в кристаллическом состоянии, водного раствора аскорбиновой кислоты концентрации $C_{\text{АК}}=9.0\%$, порошка $\text{ХТЗ} \cdot \text{HCl}$, раствора $\text{ХТЗ} \cdot \text{HCl}$ в аскорбиновой кислоте ($C_{\text{ХТЗ} \cdot \text{HCl}} =$

$= 15.0 \text{ мас.}\%$, $C_{\text{АК}}=9.0\%$), а также порошка полимерной соли, выделенной из эквимольного раствора $\text{ХТЗ} \cdot \text{HCl}$ в аскорбиновой кислоте.

Отнесение колебательных полос поглощения к функциональным группам выполнено с привлечением корреляционных таблиц [9].

Ядерно-магнитный резонанс

Спектры ЯМР ^1H растворов снимали на спектрофотометре VARIAN-400 (США), используя усреднение из 32 сканов при времени релаксации 1 с в диапазоне частот $5.4 \div 2.0 \text{ ppm}$.

Анализировали растворы аскорбиновой кислоты, $\text{ХТЗ} \cdot \text{HCl}$ и их смеси (соотношение компонентов 3:2) в дейтерированной воде при температуре 40°C .

Результаты и их обсуждение

ИК-спектроскопия

На рис. 2 приведены ИК-спектры порошка и водного раствора аскорбиновой кислоты, порошка гидрохлорида хитозана и его водного раствора в аскорбиновой кислоте.

В ИК-спектре аскорбиновой кислоты в кристаллической форме область поглощения от 3500 до 2500 см^{-1} относится к характеристическим валентным колебаниям связанных OH -групп и наложениям сигналов валентных колебаний связей $\text{C}-\text{H}$ (рис. 2, кривая 1). Причем пики при 3475 и 3323 см^{-1} соответствуют спиртовым OH -группам, участвующим в образовании водородной связи при $\text{C}-5$ и $\text{C}-6$. Пики при 2997 , 2715 см^{-1} , 2646 см^{-1} относятся к валентным колебаниям связанной OH -группы в оксикислоте, которые представлены енольными гидроксилами при $\text{C}-2$ и $\text{C}-3$. Область волновых чисел $1800-1500 \text{ см}^{-1}$ обусловлена колебаниями

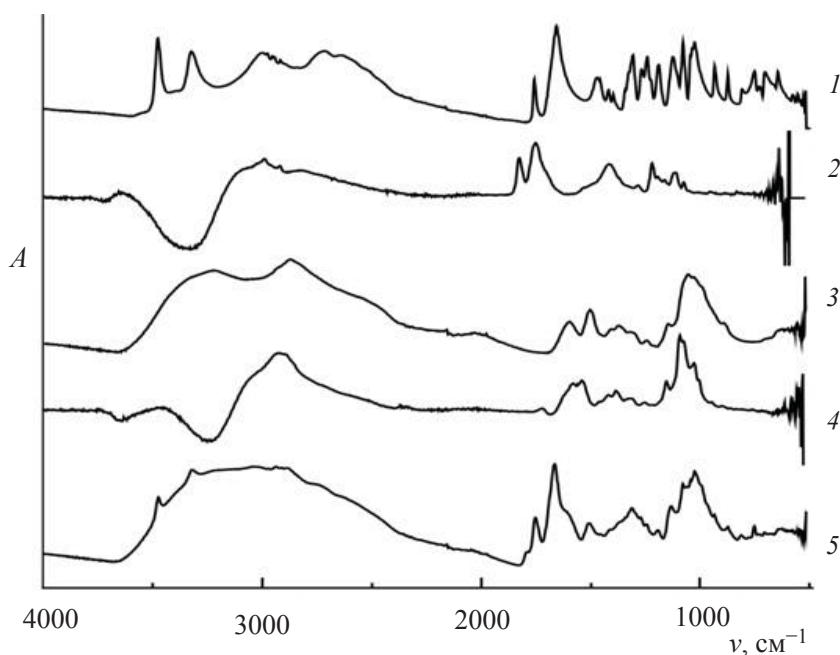


Рис. 2. Фурье ИК-спектры: порошка аскорбиновой кислоты (1), водного раствора аскорбиновой кислоты (за вычетом ИК-спектра воды) $C_{\text{АК}} = 9.0\%$ (2), порошка гидрохлорида хитозана (3), водного раствора ХТЗ·НСl $C_{\text{ХТЗ·НСl}} = 15.0 \text{ мас.}\%$ в аскорбиновой кислоте $C_{\text{АК}} = 9.0\%$ (за вычетом ИК-спектра водного раствора аскорбиновой кислоты $C_{\text{АК}} = 9.0\%$) (4) и порошка, выделенного из эквимольного раствора ХТЗ·НСl в аскорбиновой кислоте (5)

двойных связей. Так, наблюдаются пики при 1759 и 1659 см^{-1} , относящиеся к валентным колебаниям связей $>C=O$ в сопряжённых системах с $>C=C<$ в α, β непредельных γ -лактонах (енольная форма аскорбиновой кислоты). Полосы поглощения при $1309, 1271, 1246, 1194, 1128, 1028$ и 937 см^{-1} можно отнести к составным симметричным и асимметричным валентным колебаниям связи $-C-O-C-$ фуранового кольца.

В ИК-спектре водного раствора аскорбиновой кислоты $C_{\text{АК}} = 9.0\%$, по сравнению с ИК-спектром порошка, наблюдается появление новой полосы поглощения при 1830 см^{-1} (см. рис. 2, кривая 2). Данная полоса поглощения указывает на образование в растворе циклического ненасыщенного ангидрида дегидроаскорбиновой кислоты (кетонной формы).

Таким образом, сравнительный анализ ИК-спектров аскорбиновой кислоты в кристаллическом и растворённом состоянии показывает, что в растворе также не исключено присутствие этой кислоты в кетонной форме.

В ИК-спектре порошка гидрохлорида хитозана (рис. 2, кривая 3) широкую полосу поглощения с max при 3224 см^{-1} можно отнести к валентным и деформационным колебаниям $-OH$ и $-NH_2$

групп, участвующих в образовании внутри- и межмолекулярных связей. Валентные асимметричные колебания углеводородного скелета выявляются при 2875 см^{-1} . Деформационные колебания ассоциированной аминогруппы NH_3^+ соответствуют частоте 1600 см^{-1} . Валентные колебания связи $>C=O$, обусловленные взаимодействием с ν_{CN} (полоса амид I), проявляются при 1248 и 1506 см^{-1} . Частоты 1379 см^{-1} и 1059 см^{-1} соответствуют ν_{OH} и δ_{OH} .

В ИК-спектре водного раствора ХТЗ·НСl ($C_{\text{ХТЗ·НСl}} = 15.0 \text{ мас.}\%$) в аскорбиновой кислоте ($C_{\text{АК}} = 9.0\%$) наблюдается широкая полоса в области двойных связей с двумя максимумами при 1718 и 1578 см^{-1} (см. рис. 2, кривая 4), которые можно отнести к валентным колебаниям $>C=O$ и $>C=N-$ соответственно. Причём полоса поглощения при 1578 см^{-1} , как и при 1539 см^{-1} , может быть отнесена также и к деформационным колебаниям $-NH_2$ группы в ассоциированных вторичных аминах. Полосы при $1417, 1385$ и 1325 см^{-1} могут быть отнесены к симметричным и асимметричным деформационным колебаниям ассоциированной группы NH_3^+ . Симметричные и асимметричные деформационные колебания связи $C-O$ в кольце наблюдаются при $1153, 1092$ и 1028 см^{-1} .



На рис. 2 представлен также ИК-спектр порошка, выделенного из эквимольного раствора ХТЗ·НСl в аскорбиновой кислоте (кривая 5). Данный спектр представляет собой сумму спектров исходных соединений, за исключением полосы при 1670 см^{-1} ($\nu_{\text{C}=\text{N}}$), которая в совокупности с полосой при 3400 см^{-1} (ν_{NH}) может указывать на присутствие в составе иминной связи $>\text{C}=\text{NH}$.

Таким образом, вследствие возможности неоднозначного отнесения полос поглощения к

определенным типам связи явных однозначных доказательств в пользу образования комплекса или иминной связи между гидрохлоридом хитозана и аскорбиновой кислоты ИК-спектроскопия не даёт.

ЯМР-спектроскопия

На рис. 3 приведены ЯМР ^1H -спектры дейтерированных растворов аскорбиновой кислоты, гидрохлорида хитозана и смеси ХТЗ·НСl с аскорбиновой кислоты (соотношение компонентов 3:2).

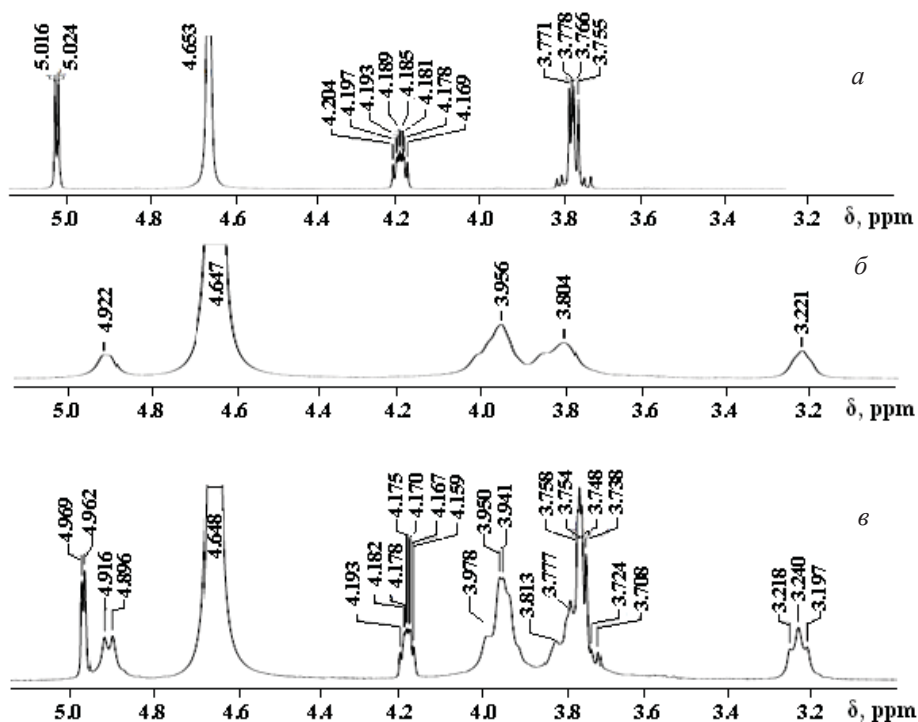


Рис. 3. ЯМР ^1H -спектры растворов в D_2O : аскорбиновой кислоты (а), гидрохлорида хитозана (б), смеси гидрохлорида хитозана и аскорбиновой кислоты в соотношении компонентов 3:2 (в)

Видно, что ЯМР ^1H -спектр дейтерированного раствора гидрохлорида хитозана в аскорбиновой кислоте (см. рис. 3, в) в целом представляет собой сумму спектров исходных соединений (см. рис. 3, а, б). Однако для смеси, по сравнению с исходными веществами, наблюдается небольшой химический сдвиг, что может являться основанием для предположения образования комплекса.

Проведённые исследования не исключают образование как комплекса с переносом заряда гидрохлорид хитозана – аскорбиновая кислота в результате ионного взаимодействия, так и иминной связи посредством ковалентного взаимодействия.

Для установления пространственной близости между протонами гидрохлорида хитозана и аскорбиновой кислоты был проведен двумерный гомоядерный эксперимент 2D [^1H , ^1H] ROESY (рис. 4), основанный на ядерном эффекте Оверхаузера.

На ^1H импульсной последовательности наблюдается диполь-дипольная кросс-релаксация при 3.67/4.89 ppm и 3.83/4.89 ppm для протонов в аминогруппе гидрохлорида хитозана (3.67 и 3.83 ppm) и протона в гидроксильной группе молекулы аскорбиновой кислоты (4.89 ppm), которые близки в пространстве друг к другу, даже если они не соединены.

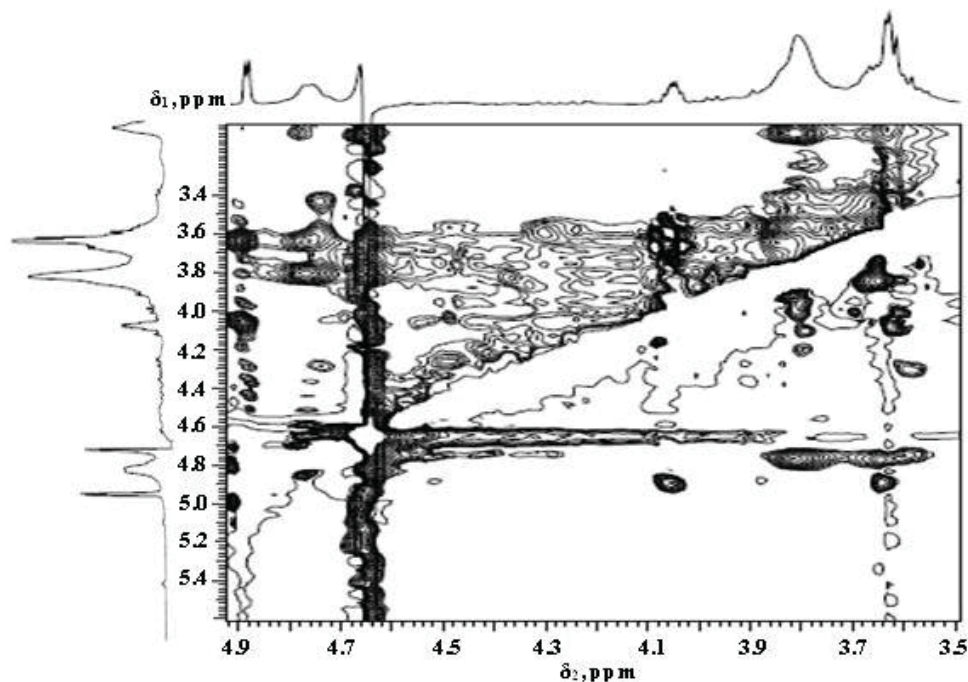


Рис. 4. 2D $[^1\text{H}, ^1\text{H}]$ ROESY–спектр раствора смеси гидрохлорида хитозана с аскорбиновой кислотой (3:2) в D_2O

Таким образом, проведенные исследования дают основание предполагать образование в водной среде пространственно сближенного комплекса между макромолекулами гидрохлорида хитозана и молекулами аскорбиновой кислоты.

Авторы выражают благодарность А. Н. Панкратову за помощь в расшифровке спектров, А. А. Аниськову и А. Н. Грибову за регистрацию ЯМР- и ИК-спектров соответственно.

Результаты работы получены в рамках выполнения государственного задания Минобрнауки России (№ 4.1212.2014/К).

Список литературы

1. Шиповская А. Б., Фомина В. И., Киреев М. Н., Казакова Е. С., Касьян И. А. Биологическая активность олигомеров хитозана // Изв. Сарат. ун-та. Нов. сер. Сер. Химия. Биология. Экология. 2008. Т. 8, вып. 2. С. 46–49.
2. Шиповская А. Б., Фомина В. И., Солонина Н. А., Юсупова К. А. Получение водорастворимых производных хитозана модификацией полимера в парах одноосновных кислот // Журн. прикладной химии. 2012. Т. 85, вып. 1. С. 126–133.
3. Singh J., Dutta P. K. Preparation, circular dichroism induced helical conformation and optical property of chitosan acid salt complexes for biomedical applications // Intern. J. Biol. Macromol. 2009. № 45. P. 384–392.
4. Li Q., Song B., Yang Z., Fan H. Electrolytic conductivity behaviors and solution conformations of chitosan in different acid solutions // Carbohydr. Polym. 2006. № 63. P. 272–282.
5. Dikumar E. A., Kozlov N. G., Mel'nichuk L. A. Salts of L-ascorbic acid with certain substituted amines and triphenylphosphine // Chem. Nat. Compd. 2004. Vol. 40, № 4. P. 406–407.
6. Tian X. L., Tian D. F., Wang Z. Y., Mo F. K. Synthesis and Evaluation of Chitosan-Vitamin C complex // Indian. J. Pharm. Sci. 2009. № 71 (4). P. 371–376.
7. Muzzarelli R. A. A., Tanfani F., Emanuelli M. Chelating Derivatives of Chitosan Obtained by Reaction with Ascorbic Acid // Carbohydr. Polym. 1984. № 4. P. 137–151.
8. Matet M., Heuzey M-C., Pollet E., Aji A., Averous L. Innovative thermoplastic chitosan obtained by thermo-mechanical mixing with polyol plasticizers // Carbohydr. Polym. 2013. № 95. P. 241–251.
9. Тарасевич Б.Н. ИК-спектры основных классов органических соединений. М.: Изд-во Моск. ун-та, 2012.