

ПАРАМАГНИТНЫЕ СВОЙСТВА И СТРУКТУРА ПЕЛОИДОПРЕПАРАТОВ ГУМИНОВОЙ ПРИРОДЫ

© 2010 А.И. Агапов, Е.Е. Катунина

Самарский государственный медицинский университет

Поступила в редакцию 05.10.2010

Для получения наиболее полной информации о свойствах гуминовых веществ лечебных грязей предложен метод электронного парамагнитного резонанса, основанный на явлении резонансного поглощения энергии парамагнитной системой. В результате проведенного исследования были определены количества парамагнитных центров для гуминовых веществ.

Ключевые слова: гуминовые кислоты, электронного парамагнитного резонанса спектроскопия, свободные радикалы

В настоящее время на фоне снижения иммунного статуса населения, связанного с ухудшением социально-экономической и экологической обстановок, одним из перспективных направлений в медицинской и фармацевтической науках является изыскание эффективных лекарственных средств на основе природных биологических соединений. В этой связи наше внимание привлекли низкоминерализованные иловые сульфидные грязи, фармакологические свойства которых обусловлены содержанием биологически активных веществ гуминового ряда. К таковым относятся гуминовые, гиматомелановые кислоты, фульвокислоты и суммарный препарат.

Гуминовые вещества (ГВ) – это совокупность биотермодинамически устойчивых соеди-

нений, образующихся в процессе разложения и трансформации растительных и животных остатков, не имеющих аналогов в живых организмах и отличающихся тёмной окраской, полидисперсностью, высокими молекулярными массами (Zimmermann W., 1989). Спецификой гуминовых веществ является стохастический характер, обусловленный особенностями их образования в результате естественного отбора устойчивых структур. Как следствие, к фундаментальным свойствам гуминовых веществ относятся нестехиометричность состава, нерегулярность строения, гетерогенность структурных элементов и полидисперсность. Реально отражает состав и свойства гуминовых веществ блок-схема, предложенная Д.С. Орловым в 1993 г. (рис. 1).

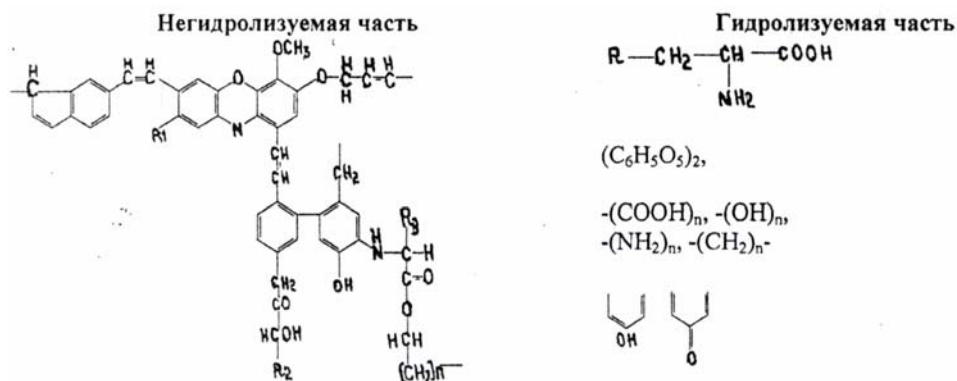


Рис. 1. Схема строения структурной ячейки гуминовой кислоты

Любые ГВ содержат большой набор функциональных групп, они полифункциональны.

Агапов Альберт Иванович, доктор биологических наук, профессор кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии. E-mail: aiagapov@mail.ru

Катунина Елена Евгеньевна, кандидат биологических наук, доцент кафедры общей, бионеорганической и биоорганической химии

Их молекулы содержат карбоксильные группы COOH , фенольные OH , хинонные C=O группы, аминогруппы NH_2 и др. Их количество, во-первых, велико, во-вторых, они распределены неравномерно по молекулам различного размера, и даже молекулы одного размера могут различаться по содержанию функциональных групп. Установлено, что

пелоидопрепараты низкоминерализованных иловых сульфидных грязей относятся к классу IV токсичности, обладают противовоспалительной, антиоксидантной, иммуноферментной активностями [1, 2]. На основании результатов элементного анализа гуминовых веществ можно считать, что имеет место окисленный характер фульвокислот и суммарного препарата, о чем свидетельствует положительная величина окисленности +0,20 и +0,18 соответственно. Группа гиматомелановых кислот характеризуется превалированием восстановительных свойств, так как степень окисленности имеет значение $\square 0,53$. Количественная характеристика степени бензоидности, являющейся по нашему мнению объективным групповым признаком, показывает, что фульвокислоты представлены менее конденсированными структурами со степенью бензоидности около 7%. В гиматомелановых кислотах данный показатель составляет 17%. Наиболее развиты ароматические структуры в молекулах гуминовых кислот и составляют 39,6%, что на четверть превышает таковые у гуминовых кислот озера Тамбукан (Кавказские минеральные воды).

Одним из диагностических критериев при стандартизации гумусовых кислот является значение коэффициента цветности E4: E6. Эта величина не зависит от концентрации веществ и определяется структурой. По нашим данным, увеличение коэффициента цветности для растворов гуминовых веществ происходит в следующей последовательности: гуминовые кислоты – суммарный препарат – гиматомелановые кислоты – фульвокислоты. Гуминовые кислоты наиболее конденсированы из данного ряда, и значение коэффициента цветности составляет 2,42; фульвокислоты, напротив, являются менее конденсированными.

Гуминовые, гиматомелановые, фульвокислоты и суммарный препарат имеют в целом однотипные ИК-спектры, свидетельствующие о родстве этих веществ друг с другом и с другими биосферными объектами. Несмотря на сходство ИК-спектров, наблюдается различие. Фульвокислоты имеют максимальную интенсивность полос в области поглощения спиртовых гидроксидов и простых эфиров. Для гиматомелановых кислот характерна наибольшая насыщенность метильных групп. Интенсивность полосы поглощения, характеризующая ароматическую структуру гумусовых кислот возрастает в следующей последовательности: фульвокислоты – суммарный препарат – гиматомелановые – гуминовые кислоты. В ^1H -ЯМР-спектрах гуминовых веществ можно различить сигналы протонов уг-

леродного скелета, ароматических систем ($\text{C}_{\text{Ar}}\text{-H}$), протонов карбогидратных, спиртовых и метоксильных фрагментов ($\text{CH}_n\text{-O}$), алифатических в α -положении к карбоксильной группе или ароматическому кольцу ($\alpha\text{-CH}_n$) и алифатических, находящихся к указанным группам не ближе, чем в β -положении. В последнее время многие ученые пришли к выводу, что парамагнетизм гуминовых веществ биосферы является их функциональным свойством.

Цель нашей работы: проследить, имеет ли место зависимость между структурой исследуемых веществ и количеством в них свободных радикалов.

Электронный парамагнитный резонанс (ЭПР) – один из молодых методов исследования. Явление ЭПР экспериментально обнаружено в 1944 г. Е.К. Завойским. ЭПР – один из основных прямых методов обнаружения и определения свободных радикалов по количеству парамагнитных центров.

Материалы и методы. Материалом исследования служили образцы гуминовых, гиматомелановых кислот, фульвокислот и суммарного препарата, выделенные и очищенные по оригинальной методике, разработанной на кафедре общей, бионеорганической и биоорганической химии Самарского государственного медицинского университета (патенты РФ № 2028149 от 09.02.1995 г., № 2043107 от 10.09.1995 г.). ЭПР-спектры препаратов гуминовых веществ регистрировали на спектрометре электронного парамагнитного резонанса, изготовленного ООО «Физэлектрон-прибор» (г. Самара) с рабочей частотой 9,3 ГГц при величине тока модуляции 0,10А, кроме фульвокислот, для которых значение тока модуляции составило 0,75 А. В качестве стандарта использовался дифенилпикрилгидразил (C_6H_5)₂-N-N-C₆H₅(NO₃)₂, состоящий на 100% из радикалов и у которого на 3,5 ВЭ² приходится 4,8·10¹⁵ КПЦ.

Величину g-фактора рассчитывали по следующей формуле:

$$g = \frac{\eta}{H_0 \left(\frac{\beta}{h} \right)} = \frac{\eta}{H_0 \cdot 1.4}$$

где g – фактор спектроскопического расщепления, зависящий от орбитального и спинового квантовых чисел, \square – частота излучения, пропускаемого через образец, Гц; H₀ – напряженность магнитного поля, Э; β – магнетон Бора, 9,3·10⁻²¹ Дж/Тл; h – постоянная Планка, 6,626·10⁻³⁴ Дж/Гц.

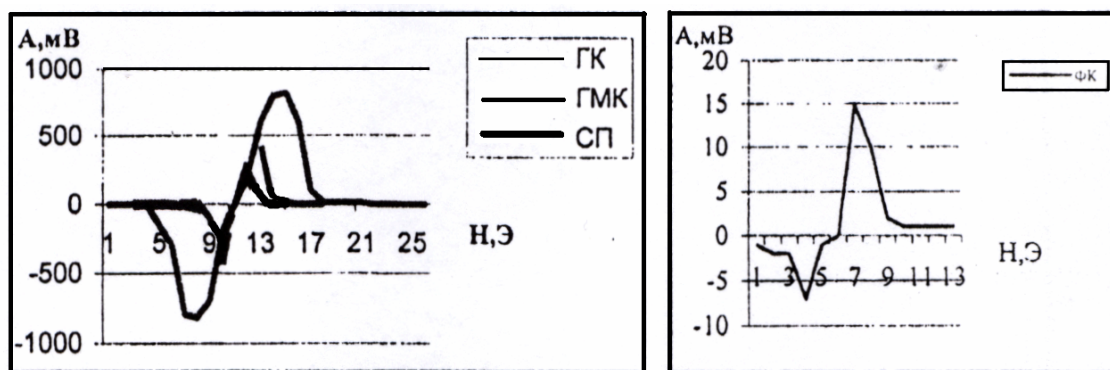


Рис. 2. ЭПР-спектры гуминовых веществ

Результаты и обсуждение. ЭПР-спектры гуминовых веществ представлены на рис. 2, из которых следует, что для ряда гуминовых веществ характерно наличие парамагнитных центров со значением g -фактора, равным 2,00. Как известно, данная величина g -фактора

определяется наличием в молекуле свободных радикалов, обусловленных сильно делокализованным электронным облаком. Данные, полученные в ходе эксперимента, были сведены в таблицу:

Таблица. Характеристики ЭПР-спектров гуминовых веществ

| Образец | $\Delta H, \text{Э}$ | $A, \text{мВ}$ | $S, \text{ВЭ}^2$ | КПЦ * 10^{-15} на 1 г образца |
|---------------------------------|----------------------|----------------|------------------|---------------------------------|
| ГК | 5,0 | 1640 | 35,2 | 600,0 |
| ГМК | 5,0 | 875 | 21 | 414,3 |
| суммарный препарат | 4,5 | 448 | 8,6 | 147,5 |
| Фульвокилоты (при $I_M=0,75A$) | 12,5 | 22 | 2,7 | 46,3 |

Примечание: ΔH – расстояние между пиками ЭПР-спектра; A – амплитуда ЭПР-спектра; S – интервал ЭПР-спектра; КПЦ – количество парамагнитных центров

Наиболее развиты ароматические структуры в молекулах гуминовых кислот, они составляют 33,0-39,6%, чем можно объяснить наибольшее количество парамагнитных центров в выбранном нами ряду веществ. Фульвокислоты представлены менее конденсированными структурами, в которых степень бензоидности не превышает 7% и число свободных радикалов для них составляет $46,3 \cdot 10^{15}$. В гиматомелановых кислотах бензоидные структуры составляют 17-21%, а количество парамагнитных центров – $414,3 \cdot 10^{15}$.

Выводы: в зависимости от степени конденсированности изменяется количество свободных радикалов в исследуемых веществах. Наибольшее значение данной величины наблюдается у гуминовых кислот как наиболее поликонденсированных из представленных образцов, в противоположность им наименьшее значение КПЦ имеют фульвокислоты с меньшим содержанием ароматических структур. Возрастание величины сигнала в ряду: фульвокислоты – суммарный препарат – гиматомелановые кислоты – гуминовые кислоты

доказывает влияние увеличения системы с сопряженными связями на данный показатель и указывает на корреляционное соотношение структура-свойство.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ:

1. Способ получения препарата для физиотерапии: пат. Рос. Федерация / А.И. Агапов, Н.П. Аввакумова. - № 5055296; заявл. 20.07.92; опубл. 10.09.95 г. // Бюлл. № 25. 6 с.
2. Агапов, А.И. Специфические органические вещества как источник пелоидопрепаратов гуминового ряда. Автореф. дис., д-ра. биол. наук. - Самара, 1999. 46 с.
3. Блюменфельд, Л.А. Применение электронного парамагнитного резонанса в химии / Л.А. Блюменфельд, В.В. Воеводский, А.Г. Семенов. – Новосибирск: СО АН СССР, 1962. 300 с.
4. Блюменфельд, Л.А. Электронный парамагнитный резонанс / Л.А. Блюменфельд, А.Н. Тихонов // Соросовский образовательный журнал. 1997. №9. С. 91-99.
5. Перминова, И.В. Анализ, классификация и прогноз свойств ГСК: Автореф. дис. д-ра. хим. наук. М., 2000. 50 с.

PARAMAGNETIC PROPERTIES AND STRUCTURE OF THE PELOID HUMAT SUBSTANCES

© 2010 A.I. Agapov, E.E. Katunina

Samara State Medical University

The method of electronic paramagnetic resonance based on the phenomenon of resonance energy absorption by the paramagnetic system was suggested in order to obtain the most complete information about properties of mud *humic substances*. The numbers of paramagnetic centers of humic substances were determined by this investigation.

Key words: *humic acids, electron spin resonance spectroscopy, free radicals*

Albert Agapov, Doctor of Biology, Professor at the Department of Common, Bionorganic and Bioorganic Chemistry. E-mail: aiagapov@mail.ru
Elena Katunina, Candidate of Biology, Associate Professor at the Department of Common, Bionorganic and Bioorganic Chemistry