

Р. Р. Шагидуллин¹, И. И. Вандюкова¹, А. О. Визель¹, Л. И. Щукина¹,
И. А. Студенцова², Р. С. Гараев²

ИК-СПЕКТРАЛЬНОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ КОМПЛЕКСООБРАЗОВАНИЯ ДИМЕФОСФОНА С ХЛОРИДОМ КАЛЬЦИЯ

¹ Институт органической и физической химии им. А. Е. Арбузова Казанского
центра Российской академии наук, Казань;

² Казанский государственный медицинский университет

Большое число разнообразных заболеваний, при лечении которых эффективно применение лекарственного средства димефосфон (Д) [1, 2], позволяет предполагать участие препарата в ключевых звеньях, общих для основных метаболических процессов. Такой подход стимулирует исследования по выявлению универсальных механизмов действия Д на молекулярном уровне.

На основании изучения влияния Д на агрегацию тромбоцитов и на функционально-метаболическую активность лейкоцитов было высказано предположение [3], что таким общим механизмом может являться изменение соотношения концентраций ионов кальция во внутри- и внеклеточной жидкостях, происходящее под действием препарата. В самое последнее время в экспериментах с использованием прямого метода регистрации динамики свободного Ca^{2+} во внутриклеточной среде показано, что Д повышает уровень кальция в клетке за счет его освобождения из внутриклеточных депо [4]. С целью выявления возможности участия Д в молекулярных биологических процессах путем его взаимодействия с ионами кальция и их окружением проведено настоящее ИК-спектральное исследование.

Экспериментальная часть

В данной работе получены ИК Фурье – спектры субстанции Д (СД) — диметилового эфира 1,1-диметил-3-оксобутилфосфоновой кислоты $\text{H}_3\text{C}-\text{C}(\text{O})-\text{CH}_2-\text{C}(\text{CH}_3)_2-\text{P}(\text{O})(\text{OCH}_3)_2$, хлорида кальция (ХК, как известно, образующего гексагидрат [5] $\text{CaCl}_2 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$, в общем случае $\text{CaCl}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$), их смесей в виде смоченного жидким СД порошка ХК (кашицеобразной массы), смеси в виде эмульсии в вазелиновом масле, таблетки с КВг, между полиэтиленовыми пленками, КВг, NaCl, CaF_2 пластинками, растворов обоих компонентов в воде, физиологическом (изотоническом) растворе (ФР — 0,9 % раствор NaCl в воде).

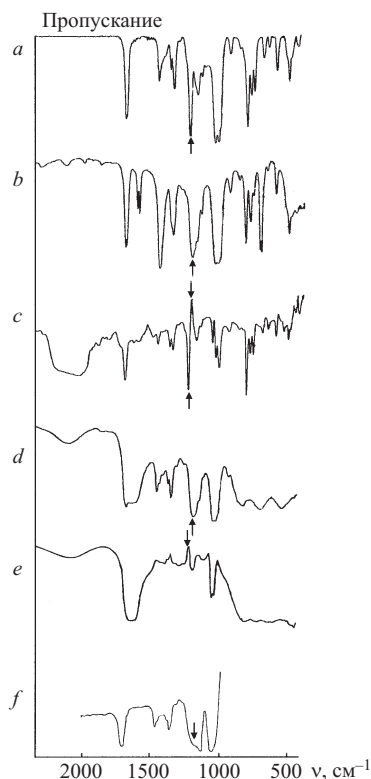
В экспериментах использованы СД, полученный по методике [6] и соответствующий требованиям ФС 42-2993–99 кальций хлористый гранулированный марки ч.д.а. Кашицеобразную смесь готовили до полного смачивания порошка ХК жидким СД, сливая надосадочную жидкость, которую исследовали отдельно. Концентрации растворов СД в H_2O и ФР составляли 10 – 15 % весовых. При этом брали свежеперегранный препарат во избежание эффектов гидролиза, признаки

которого в некоторой степени проявляются со временем.

ИК-спектры регистрировали на Фурье-спектрометре IFS-113v (Bruker, Германия) в диапазоне $4000 - 400 \text{ см}^{-1}$. Разрешение — 4 см^{-1} , накопление — 128 сканов. Регистрация спектров растворов производилась между пластинами KRS-5. Толщины слоев во всех случаях не контролировались и подбирались эмпирически для получения оптимальной картины (оценочно 5 – 15 мк). Для установления изменений в спектрах и их интерпретации применены принципы дифференциальной (разностной) спектроскопии.

Результаты и их обсуждение

Довольно подробная интерпретация колебательного спектра молекул СД была дана нами ранее при изучении конформационного поведения СД как в чистом виде, так и в воде и других полярных и неполярных растворителях [7, 8]. На рисунке (а, в) отчетливо видно, что основным изменением спектра кашицеобразной смеси в сравнении с чистым СД является смещение пика очень интенсивной полосы поглощения валентных колебаний фосфорильной связи — $\nu(\text{C}=\text{O})$ с 1245 см^{-1} до 1224 см^{-1} ($\Delta\nu = 21 \text{ см}^{-1}$). Прочие полосы поглощения, в частности, очень интенсивные — $\nu(\text{C}=\text{O})$ 1718/1708 см^{-1} , $\nu(\text{P}-\text{O}-\text{C})$ 1059/1034 см^{-1} , а также известные ν и $\delta(\text{CH})$, $\nu(\text{C}-\text{C})$, $\nu(\text{P}-\text{O}-\text{C})$ в областях ~ 2900 , ~ 1450 , $\sim 1000 \text{ см}^{-1}$ столь драматических изменений не претерпевают. Для выяснения роли подложки были записаны спектрограммы СД и его смесей с ХК не только между пластинками КВг, но и NaCl, CaF_2 , ПЭ. Картина везде получилась одинаковая — смещение пика $\nu(\text{P}=\text{O})$ в смеси и относительная неизменность остальных пиков. Было изучено также влияние среды на спектральные характеристики. Спектрограммы компонент, СД, ХК и их смесей были зарегистрированы в нейтральной среде — вазелиновой эмульсии и полярной — таблеток с КВг. При этом вазелиновая эмульсия образцов помещалась как между пластинами КВг, так и ПЭ. Во всех случаях эффект взаимодействия жидкой СД и порошка ХК в нормальных условиях (комнатной температуре) был одинаковый — смещение $\nu(\text{P}=\text{O})$ с 1245 до 1228 – 1224 см^{-1} . Все вышеописанное относится к кашицеобразной суспензии ХК в СД, в которой молекулы СД могут быть адсорбированы на частичках соли и находятся, таким образом, в тесном контакте с молекулами (ионами)



Инфракрасные спектры поглощения димефосфона с хлоридом кальция: *a* — димефосфон (субстанция, жидкость); *b* — кашицеобразная смесь СД + ХК в вазелине; *c* — надосадочная жидкость в смеси, дифференциальный спектр (СД минус смесь); *d* — раствор ХК в изотонической среде (ФР); *e* — его дифференциальный спектр (растворитель минус раствор); *f* — спектр прокаленной до 120 °С кашицеобразной смеси СД + ХК. Примечание: стрелками помечены проявления $\nu\text{P}=\text{O}$.

ХК. Наряду с этим были изучены и спектры гомогенной надосадочной жидкой части смеси, у которой были другие условия контакта, молекулы хлорида находятся в окружении молекул СД. Обзорный спектр слива мало отличается от спектра самого СД. Однако в их дифференциальном спектре (разность спектров образцов) при 1226 см^{-1} фиксируется вышеописанный пик $\nu(\text{P}=\text{O})$ продукта взаимодействия (рисунок, *c*), т.е. и в среде надосадочной жидкости некоторая доля молекул СД связана через посредство фосфорильной группы с ХК примерно так же, как и в кашицеобразной части.

Поскольку все процессы в живых организмах проходят в водно-солевой среде, нами исследованы ИК Фурье-спектрограммы растворов СД и ее смесей с ХК в воде и ФР (рисунок, *d*). Спектр водного раствора СД был описан нами ранее [8]. Основные изменения спектра ДМФ при переходе к среде H_2O и ФР относятся также к $\nu(\text{P}=\text{O})$. В обоих случаях $\nu(\text{P}=\text{O})$ смещена вниз до $\sim 1200\text{ см}^{-1}$ ($\Delta\nu \approx 45\text{ см}^{-1}$) в силу, очевидно, водородных связей СД и H_2O [8]. При добавлении в эти растворы ХК в обзорных спектрах трудно выделить конкретные эффекты в силу их значительной сложности. Однако последние фиксируются в дифференциальных спектрах, (СД + H_2O + ХК) минус (СД + H_2O) и (СД + ФР + ХК) минус (СД + ФР). Как в том, так и в

другом случаях в условиях проведенного эксперимента регистрируются уже фигурировавшие пики $\sim 1225\text{ см}^{-1}$, (рисунок, *e*).

Известно, что диэлектрические эффекты не такие резкие и менее выражены, чем специфические. Водородные связи, как правило, характеризуются большими силой и дискретностью [9, с.258]. Установлено, что $\nu(\text{P}=\text{O})$ при переходе из одной среды в другую, например, такой неполярной среды как CCl_4 к полярной $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ смещается не более, чем на 10 см^{-1} , а от $(\text{CH}_3)_2\text{SO}$ к $(\text{CH}_3)_2\text{CO}$ на $\sim 5\text{ см}^{-1}$ [10]. В то же время специфические взаимодействия, водородные связи, комплексообразование вызывают эффекты $\Delta\nu(\text{P}=\text{O})$ до $\sim 50 - 100\text{ см}^{-1}$ [11]. У кетонов же сдвиги $\Delta\nu(\text{C}=\text{O})$ при образовании водородных связей малы $\sim 3 - 10\text{ см}^{-1}$, в то время, как при комплексообразовании донорно-акцепторного характера эти величины составляют $\sim 100\text{ см}^{-1}$ [9, с.164]. Считается, что фосфорильная группа является выраженным донором электронов. Кальций же в качестве щелочно-земельного металла II группы периодической системы способен быть комплексообразователем в качестве акцептора электронов, находясь по силе где-то во главе соответствующего ряда [12]. В самых разнообразных условиях эксперимента: кашице СД + ХК, надосадочной жидкой части этой смеси с преобладанием СД, водном и изотоническом растворах различной концентрации СД и ХК, взаимодействие этих двух компонент проявляется прежде всего в сдвиге $\nu\text{P}=\text{O}$ СД с ~ 1245 до $\sim 1225\text{ см}^{-1}$. Существенного постоянного эффекта на $\nu\text{C}=\text{O}$, так же как и в [7, 8], не отмечается. Хотя некоторые перераспределения, сдвиги до $\Delta \approx 10\text{ см}^{-1}$, в пределах сложного контура $\nu\text{C}=\text{O}$, наблюдаются. Примечательно то, что на спектрограммах кашицы СД + ХК пики поглощения гидратных молекул H_2O в области $\sim 3400\text{ см}^{-1}$ (νOH_2) и $\sim 1630/1614\text{ см}^{-1}$ (δOH_2) сохраняются (рисунок, *e*) при наличии лишь небольших изменений. Все вышеописанное свидетельствует о том, что наиболее активной функциональной группой молекул СД является $\text{P}=\text{O}$. Она, в первую очередь, взаимодействует со средой и партнером — $\text{CaCl}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$. При этом в обычных условиях (комнатной температуре и нормальном атмосферном давлении) превалирует один преимущественный тип взаимодействия этих двух исследуемых объектов. Отмечавшееся выше сохранение основных признаков гидратной сферы ХК указывает на то, что взаимодействие происходит не путем вытеснения молекул H_2O из координационной сферы CaCl_2 . Существенная величина $\Delta\nu\text{P}=\text{O}$ и ее дискретность заставляют предположить, что речь должна идти о молекулярных комплексах СД ... $\text{CaCl}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ посредством водородных связей фосфорильной группировки СД с гидратной оболочкой ХК или в растворах — ионов Ca^{2+} , результата диссоциации молекул ХК, по типу $-\text{P}=\text{O} \dots \text{H}-\text{OH}_k \cdot \text{CaCl}_2 \cdot m\text{H}_2\text{O}$. Меньший сдвиг $\Delta\nu\text{P}=\text{O}$ в этом комплексе по сравнению с водным $\Delta\nu\text{P}=\text{O}$ следует объяснить различием поляризуемости $\text{O}-\text{H}$ -связей и

кооперативных эффектов в соответствующих ансамблях. Отметим, что наблюдаемые сдвиги, $\Delta\nu_{\text{P=O}} \approx 20 \text{ см}^{-1}$ в водородных связях фосфонатов соответствуют энтальпиям $-\Delta H \approx 6 \text{ ккал/моль}$ [11], хотя в общем случае строгой симбатности этих величин не установлено.

Иной характер спектров имеет место при повышенных температурах и исключении конкуренции со стороны молекул воды. При нагревании кашицеобразной смеси СД и ХК до 120°C в ИК-спектрах поглощения происходят дальнейшие резкие изменения положения полос $\nu_{\text{P=O}}$. Соответствующий пик сдвигается до 1148 см^{-1} , оставаясь одним из самых интенсивных. Одновременно исчезают вышеописанные полосы поглощения гидратирующих ХК-молекул воды ν_{OH_2} и δ_{OH_2} (рисунок, *f*). Отсюда, непосредственно, следует вывод о том, что удаление гидратной оболочки CaCl_2 делает доступным новый тип взаимодействия фосфорильной группы с открывающимся центром, в первую очередь, очевидно, Ca^{2+} , и образуется уже донорно-акцепторный комплекс СД ... ХК по типу $-\text{P=O} \dots \text{Ca}^{2+} \text{Cl}_2^{-}$. Аналогичное явление было зафиксировано нами в [8] для донорно-акцепторных комплексов СД со SnCl_4 . Центр поглощения несимметричной, вообще говоря, полосы $\nu_{\text{C=O}}$ остается при 1710 см^{-1} , то есть, и в этом случае карбонильная группа ведет себя менее активно. Последняя, естественно, должна принимать участие в водородных связях соответствующих сред и Н-комплексов. Об этом свидетельствуют и отмечавшиеся вариации пика $\nu_{\text{C=O}}$. Однако в общем случае протонно-акцепторная способность C=O -группы слабее, чем P=O [13], при этом сдвиги $\Delta\nu_{\text{C=O}}$ невелики. Кроме того, пики $\nu_{\text{C=O}}$ попадают в область поглощения H_2O , затрудняя детальный анализ. Следовательно, при высоких температурах, в условиях удаления гидратной оболочки гексагидрата хлорида кальция, донорно-акцепторный комплекс образуется лишь по $-\text{P=O}$ связи, без непосредственного участия карбонильной группы. Нужно отметить, что в отсутствие гидратной оболочки не исключены очень слабые дополнительные взаимодействия $-\text{P=O}$ и $>\text{C=O}$ -фрагментов с центрами хлорид-ионов [14]. На основе предыдущих результатов можно дать некоторую энергетическую характеристику описанного ДА-комплекса. В [11] для донорно-акцепторных комплексов серии фосфорильных соединений со SbCl_3 в среде CCl_4 было выведено соотношение, связывающее энтальпию взаимодействия со сдвигом $\nu_{\text{P=O}}$: $-\Delta H \approx 0,22 \cdot \Delta\nu_{\text{P=O}} - 4,1$ (ккал/моль). Частота $\nu_{\text{P=O}}$ СД в CCl_4 равна 1250 см^{-1} [7]. Допуская применение этой формулы оценочно к рассматриваемому случаю, получаем, что энтальпия донорно-акцепторного комплексообразования СД с ХК равна $-\Delta H = 0,22 \cdot 2 - 4,1 = 14$ (ккал/моль), достаточно заметная величина в сравнении с фигурировавшей выше и данными [11].

Мы не останавливаемся в настоящем сообщении на некоторых изменениях ИК-поглощения в иных областях, нежели область проявления $\nu_{\text{P=O}}$. Они, как уже отмечалось, имеют место, но существенно менее выражены и не выходят за рамки, вызываемые водородными связями, диполь-дипольных и конформационных эффектов, описанных нами ранее [7, 8, 10, 11]. Проблемы же многообразия, стехиометрии и структуры комплексов в столь сложных системах, где следует ожидать разнообразия ассоциатов, их конкуренции, требует специального исследования. На данном этапе получен утвердительный ответ на поставленный вопрос о возможности взаимодействия Д с Ca^{2+} -ионами.

Таким образом, ИК Фурье-анализ композиций из СД и $\text{CaCl}_2 \cdot n\text{H}_2\text{O}$ в различных условиях, включая близкие к средам живых организмов, достаточно убедительно показывает способность СД координироваться с гидратной оболочкой ХК или непосредственно с центральным катионом Ca^{2+} и, следовательно, влиять на процессы его транспорта. При подобном взаимодействии в условиях живого организма фосфорильная группа субстанции димефосфона может влиять на кальцийзависимые регуляторные процессы клеток. Другой же функциональный центр СД — карбонильная группа — остается относительно свободной для взаимодействия с комплементарными для него биомолекулами.

ЛИТЕРАТУРА

1. Г. Л. Вышковский (ред.), *Регистр лекарственных средств России*, Энциклопедия лекарств, Выпуск 9, ООО "РЛС-2002", Москва (2002), сс. 302 – 303.
2. А. О. Визель, Р. С. Гараев, А. А. Муслинкин, И. И. Студенцова, *Terra Medica*, № 3, 33 – 35 (1998).
3. В. Н. Цибулькина, *Казанский мед. журн.*, **80**(2), 120 – 122(1999).
4. Р. А. Гиниатуллин, Р. Р. Гиниатуллина, Е. М. Соколова и др., *Казанский мед. журн.*, **82**(2), 132 – 133 (2001).
5. *Химический энциклопедический словарь*, Советская энциклопедия, Москва (1983), с. 238.
6. Б. А. Арбузов, А. А. Муслинкин, А. О. Визель и др., А.с. № 510923, *Бюл. изобрет.*, № 42 (1986).
7. А. Х. Плямоватый, И. И. Вандюкова, Р. Р. Шагидуллин, А. О. Визель, *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, № 7, 1577 – 1584(1990).
8. Р. Р. Шагидуллин, А. Х. Плямоватый, И. И. Вандюкова и др., *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, № 9, 2161 – 2165(1990).
9. Л. Беллами, *Новые данные по ИК-спектрам сложных молекул*, Мир, Москва (1971).
10. Р. Р. Шагидуллин, В. Е. Бельский, Л. Х. Ашрафуллина и др., *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, № 11, 2502 – 2504(1973).
11. Л. Х. Ашрафуллина, В. Е. Бельский, Р. Р. Шагидуллин, *Изв. АН СССР. Сер. хим.*, № 7, 1504 – 1506(1976).
12. Дж. Льюис и Р. Уилкинс (ред.), *Современная химия координационных соединений*, Иностранная литература, Москва (1963), с. 36.
13. A. V. Iogansen, *Spectrochim. Acta. Part A*, **55**, 1585 – 1612 (1999).
14. K. Sankaran, K. Sundararajan, K. S. Viswanathan, *J. Mol. Struct.*, **609**, 177 – 185(2002).

Поступила 10.07.03