

ОСОБЕННОСТИ ПОВЕДЕНИЯ ФУЛЛЕРЕНА C_{60} В ВОДНОМ РАСТВОРЕ В ПРИСУТСТВИИ МОЛЕКУЛ КОФЕИНА

Минтяк А.Ю., Головченко И.В.

Севастопольский государственный университет

ул. Университетская, 33, г. Севастополь, 299053, РФ; e-mail: golovchenko.igor1991@gmail.com

Поступила в редакцию: 31.08.2018

Аннотация. В работе рассматривается поведение фуллерена C_{60} при титровании в водном растворе кофеином. С помощью методов ИК-спектроскопии и кондуктометрии показано, что молекулы фуллерена C_{60} образуют комплексы с лигандами кофеина, о чём свидетельствуют изменения на ИК-спектрах в области ароматических связей, а также отличие проводимости смеси от суммарной проводимости растворов отдельных компонентов при тех же концентрациях, что и в растворе.

Ключевые слова: фуллерен C_{60} , кофеин, водный раствор, агрегация.

В настоящее время одним из наиболее широко используемых методов в терапии различного рода патологий является комбинированное использование препаратов, целью которого является снижение негативных последствий от приёма активного вещества, или изменение его физико-химических свойств: растворимости, сродства и др. Нельзя преуменьшать важность и синтеза новых веществ, но данный метод требует намного больших затрат ресурсов, в том числе и временных. В связи с этим крайне важным является выявление природы механизмов совместного действия препаратов.

Кофеин-бензоат натрия оказывает психостимулирующее и восстановительное действие, тормозит действия фермента фосфодиэстеразы в сердце, жировой, поперечно - полосатой тканях, а также в центральной нервной системе, способствует накоплению циклических аденозинмонофосфата и гуанозинмонофосфата. Вызывает стимуляцию центров продолговатого мозга, центры блуждающего нерва, а также оказывает прямое возбуждение коры головного мозга. Повышает уровень физической и умственной работоспособности, увеличивает уровень двигательной активности, уменьшает время реакции на возбудители помогает устранить сонливость и утомляемость. Кофеин уменьшает агрегацию тромбоцитов и освобождение гистамина способствуя разжижению крови. Способствует повышению основного обмена: увеличивает гликогенолиз и повышает уровень липолиза. Бензоат натрия добавлен в состав для лучшего растворения и усвоения кофеина организмом. Кофеин широко применяется в медицине. Кофеин (натрия) бензоат принимают независимо от приема пищи, но нельзя принимать его перед сном, так как он приводит к бессоннице. Пьется кофеин-бензоат курсом от нескольких недель до нескольких месяцев. Резкая отмена препарата приводит к торможению центральной нервной системы, а также способствует появлению депрессии [1].

Кофеин или гуаранин – азотосодержащее соединение пиримидина, белые или прозрачные игольчатые кристаллы. Кофеин хорошо растворяется в теплой воде и хлороформе, он влияет на центральную нервную систему и является психостимулятором. По своему строению и фармацевтическим свойствам кофеин близок к теofilлину, вместе они относятся к ряду метилксантинов. Как все пуриновые алкалоиды кофеин взаимодействуя с реактивом Несслера дает темно-красный осадок. В медицине кофеин используется при инфекционных и иных заболеваниях, которые сопровождаются угнетением центральной нервной системы, а также при отравлении ядами или наркотиками. Кофеин востребован как мочегонное средство. Основой фармакотерапевтического действия кофеина является быстрая способность угнетать активность центральных аденозиновых рецепторов в коре головного мозга. Возбуждая аденозином аденозиновые рецепторы типа A1 кофеин уменьшает образование цАМФ. Такая блокада рецепторов приводит к восстановлению активности D2 рецепторов, что вносит большой вклад в психостимулирующий эффект кофеина [2].

Фуллерен – это молекулярное соединение, которое относится к классу аллотропных форм углерода. Это полициклическая структура, имеющая сферическую форму, которая состоит из пяти- и шестичленных циклов углерода (C). Молекулы фуллерена являются дискретными, поскольку им характерна молекулярная структура.

Свое начало фуллерены получили благодаря инженеру и архитектору Ричарду Фуллеру, который конструировал полусферические архитектурные сооружения, состоящие из пяти- и шестиугольников. Впервые теория о существовании структур из 60 атомов углерода была обоснована теоретически Бочваром и Гальперином. Получить C_{60} в достаточных для исследования количествах удалось в 1990 г. Хаффману и Кретчмеру, они провели опыт с испарением графита с помощью электрической дуги в атмосфере гелия (He) [3].

Молекулы фуллерена могут состоять из 20-540 атомов углерода, которые располагаются на сферической поверхности, наиболее устойчивое из них – C_{60} (60 атомов углерода), которое состоит из 12 пятичленных циклов углерода и 20 шестичленных циклов. Кристаллы фуллерена являются хорошими полупроводниками. Ряд исследований фуллеренов был связан с вопросами их использования в качестве нового хорошо проводимого материала. Но одним из больших недостатков такого проводника являлось влияние кислорода и в связи с этим требовалось специальное защитное покрытие. Также широкое применение фуллерены нашли в медицине в качестве основы для создания новых лекарственных препаратов, например, разработка противоаллергических средств. Фуллерены являются сильными антиоксидантами, именно благодаря этому они способны продлевать продолжительность жизни крыс и червей. Производные фуллеренов являются эффективными средствами для

лечения ВИЧ (вируса иммунодефицита человека). Фуллерен блокирует активный центр ВИЧ-протеразы, без которой новая вирусная частица не может образовываться.

Кондуктометрия – метод анализа, который основан на измерении электропроводности жидких сред (растворов электролитов).

Электропроводностью (σ) называется величина обратная электрическому сопротивлению (R) и, соответственно, рассчитывается по формуле:

$$\sigma = \frac{1}{R}.$$

Как следствие вышесказанного, аналитическим сигналом может служить или электропроводность раствора, или его сопротивление. Сигнал, сформированный в межэлектродном пространстве, возникает за счет диссоциации молекулы на ионы, а также за счет перемещения ионов под действием внешнего напряжения, поэтому кондуктометрическим анализом можно исследовать только растворы электролитов.

В методе кондуктометрического анализа используется кондуктометрическая ячейка – сосуд с двумя электродами, между которыми находится раствор исследуемого электролита. В основном, электроды делают из нержавеющей стали или платины. Электроды должны быть одинаковыми, параллельными с одинаковой площадью поверхности.

Посредством кондуктометрии можно измерить УЭП (удельную электропроводность), т.е. измерить электропроводность 1 см³ раствора, находящегося между электродами площадью 1 см² и расстоянием в 1 см, принятые единицы измерения – См/см.

С помощью кондуктометрического сигнала нельзя определить количественное содержание вещества в смеси и получить характеристику о составе раствора. Величину УЭП измеряют с помощью кондуктометра или рассчитывают по данным сопротивления раствора.

Существуют некоторые факторы, которые влияют на значение удельной электропроводности раствора:

1) Природа электролита:

- степень диссоциации (чем больше значение диссоциации, тем больше УЭП);
- подвижность ионов электролита (чем больше подвижность, тем больше УЭП).

2) Природа растворителя для раствора:

- диэлектрическая проницаемость (чем больше диэлектрическая проницаемость, тем больше диссоциация, а, следовательно, и УЭП);
- вязкость среды (чем больше вязкость, тем меньше УЭП, из-за уменьшения подвижности ионов).

3) Температура раствора:

- чем больше начальная температура, тем больше УЭП, из-за увеличения теплового движения и степени диссоциации, а также уменьшения вязкости при нагревании.

4) Концентрация электролита:

- в разбавленных растворах наблюдается прямая зависимость $\sigma = f(C)$;
- в сильно концентрированных растворах наблюдается отклонение от линейности.

Инфракрасная спектроскопия это один из основных методов исследования (анализа) органических соединений. ИК-спектроскопия представляет собой быстрый способ изучения структурных особенностей органических соединений [11]. Путем ИК-спектроскопии можно быстро и надежно идентифицировать различные функциональные группы: гидроксильную, амидную, циано, карбоксильную и др.; также непредельные фрагменты: гетероароматические и ароматические системы, двойные, тройные С-С связи. С помощью ИК-спектроскопии можно изучить внутримолекулярные и межмолекулярные взаимодействия, таких как образование Н-связей [11, 12].

ИК-спектроскопия проводится благодаря инфракрасному излучению, это излучение с длиной волны от 0,5 мкм до 1000 мкм. В данном диапазоне происходят переходы между колебательными и вращательными уровнями энергии. Колебательные движения в молекулах испытывают химические связи. Поглощаемая энергия изменяется скачкообразно из-за квантования колебательной энергии молекул [12]. Инфракрасный (колебательный) спектр молекулы представляет ряд полос поглощения (пиков), которые отвечают за колебания различных энергетических переходов. Большая часть энергетических переходов происходит в интервале длин волн от 2,5 мкм до 25 мкм, в единицах волновых чисел – 4000-400 см⁻¹. Именно в этом интервале и происходит регистрация спектров органических соединений.

ИК-спектроскопия основана на явлении поглощения химическими веществами инфракрасного излучения с одновременным возбуждением колебаний молекул. Инфракрасное излучение представляет собой электромагнитную волну и характеризуется длиной волны λ , частотой ν и волновым числом K , которые связаны следующей зависимостью [13]:

$$K = \frac{\nu}{c_n} = \frac{1}{\lambda},$$

где c_n – скорость света в среде.

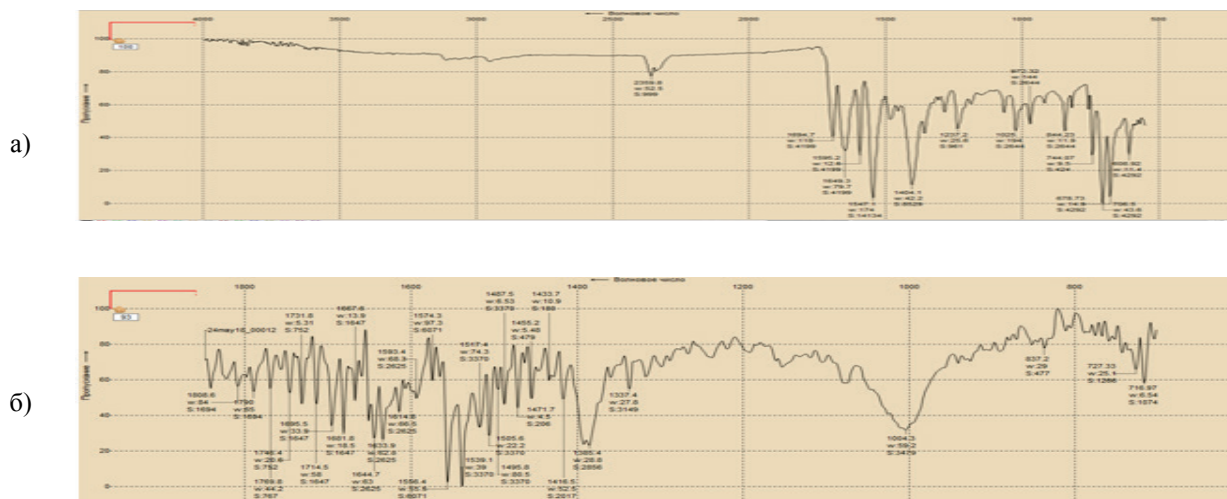


Рисунок 1. ИК-спектр водного раствора кофеин-бензоата натрия в чистом виде

В спектроскопии поглощения, частным случаем которой является ИК-спектроскопия, происходит поглощение молекулами фотонов определённой энергии, которая связана с частотой электромагнитной волны через постоянную Планка:

$$E_p = h \cdot \nu.$$

При поглощении фотона происходит возбуждение – увеличение энергии молекулы: она переходит из основного колебательного состояния E_1 в некоторое возбуждённое колебательное состояние E_2 так, что энергетическая разница между этими уровнями равна энергии фотона:

$$E_2 - E_1 = \sum E = h \cdot \nu = h \cdot c \cdot K.$$

Энергия поглощённого инфракрасного излучения расходуется на возбуждение колебательных переходов для веществ в конденсированном состоянии. Для газов поглощение кванта ИК-излучения приводит к колебательным и вращательным переходам.

Посредством исследовательского инфракрасного спектрометра «ФТ-801» и приставки НПВО с элементом ZnSe были получены ИК-спектры чистых водных растворов лигандов (кофеина и кофеин-бензоата натрия) и фуллерена C_{60} . Спектры были получены при десяти сканированиях с разрешающей способностью 4 см^{-1} . В начале работы были сняты опорные ИК-спектры воздуха.

После были получены ИК-спектры кофеин-бензоата натрия (рис. 1) и кофеина (рис. 2) в сухом виде на SEIRS подложке, из которых программа ZAIR 3.5 автоматически вычла опорный спектр воздуха.

При этом спектр кофеина в комплексе с фуллереном C_{60} , имел отличия от спектра чистого водного раствора кофеина в области, соответствующей водородным связям (рис. 3). Из чего можно сделать вывод, что фуллерен C_{60} взаимодействует с кофеином, тем самым оказывая влияние на его поведение в растворе.

ИК-спектры водного раствора и сухого остатка фуллерена C_{60} (рис. 4) показали, что данное соединение практически не дает резонансных пиков поглощения в рабочем диапазоне прибора.

Снятие ИК-спектра водного раствора кофеин-бензоата натрия (рис. 5) проводилось при разных концентрациях ($C_1 = 20 \text{ ммоль}$, $C_2 = 40 \text{ ммоль}$), при работе с водными растворами так же снимались опорные спектры растворителя (бидистиллята), которые автоматически вычитались из спектров водных растворов лигандов.

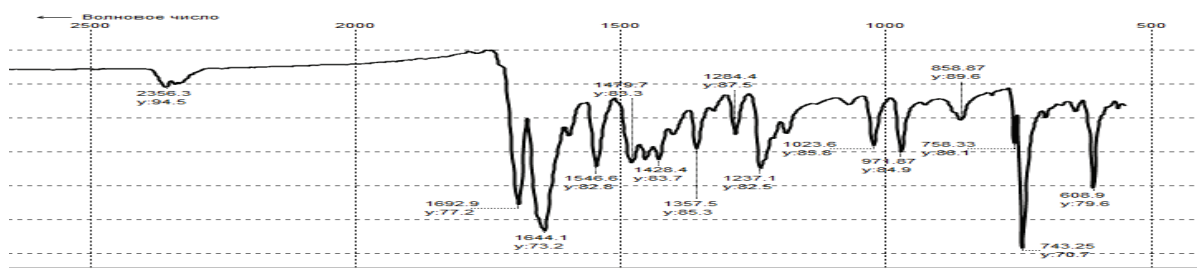


Рисунок 2. ИК-спектр взвеси кофеина в чистом виде, снятый при помощи приставки НПВО на SEIRS подложке



Рисунок 3. а) ИК-спектр фуллерена C_{60} без вычета опорного спектра бидистиллята, б) ИК-спектр фуллерена C_{60} с вычетом опорного спектра бидистиллята

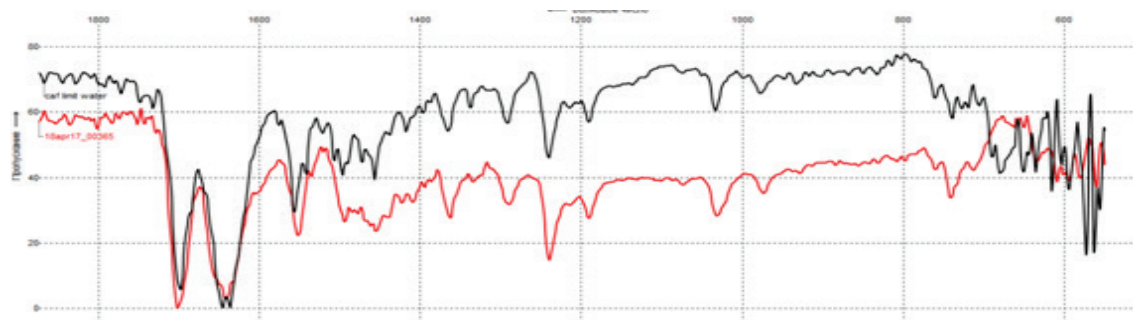


Рисунок 4. ИК-спектр чистого водного раствора кофеина (черный) и водного раствора кофеина в комплексе с фуллереном C_{60} (красный)

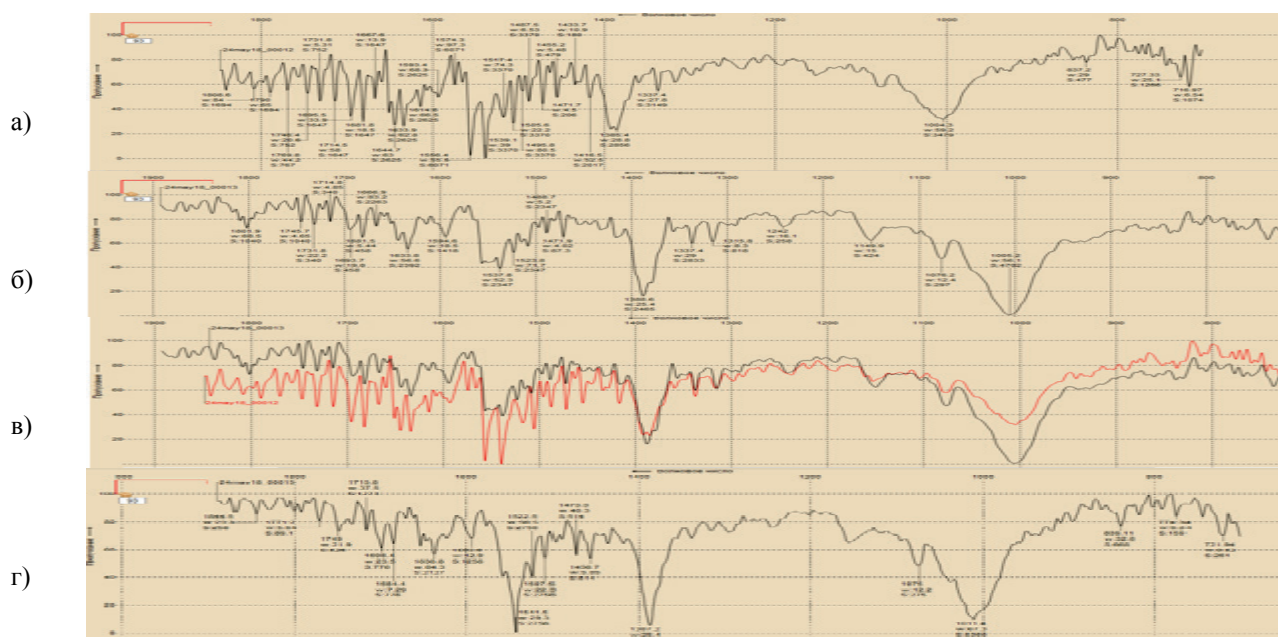


Рисунок 5. ИК-спектры кофеин-бензоата натрия при разных концентрациях: а) $C = 20$ ммоль, б) $C = 40$ ммоль, в) совмещение ИК-спектров кофеин-бензоата натрия в разных концентрациях (красный – 20 ммоль, черный – 40 ммоль), г) ИК-спектр кофеин-бензоата натрия в присутствии C_{60}

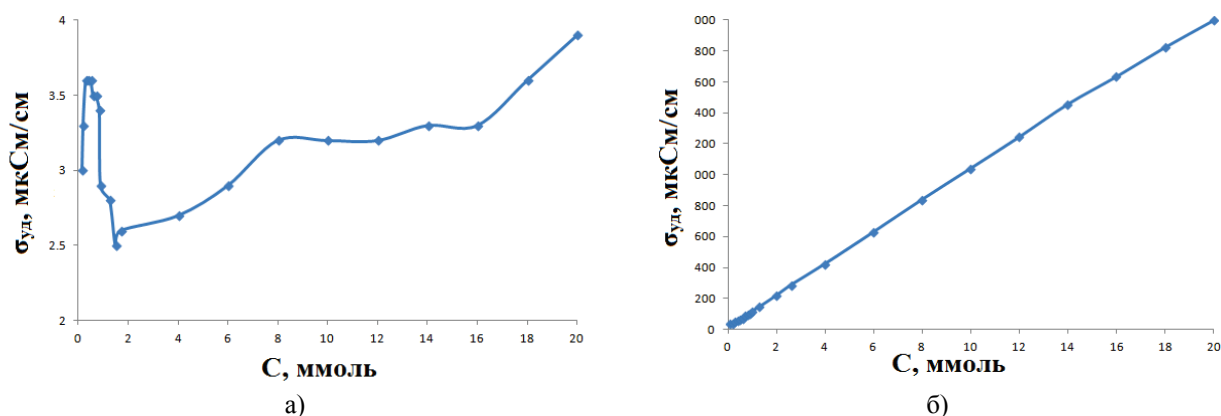


Рисунок 6. Зависимости электропроводности водных растворов кофеина (а) и кофеин-бензоата натрия (б) от концентрации, полученные путем кондуктометрического титрования

Из рисунка 5 (в, г) видно, что, не смотря на то, что концентрация кофеин-бензоата в целом уменьшилась (это хорошо заметно в области 100 см^{-1}), интенсивность некоторых пиков в присутствии фуллерена C_{60} резко возросла (в частности пики, соответствующие 1390 см^{-1} и 1540 см^{-1}).

Рассматриваемые пики соответствуют колебаниям гидроксильной группы (1540 см^{-1}), а также, изменениям конформации шестичленного ароматического кольца в кофеине (1390 см^{-1}). Из чего можно сделать вывод, что фуллерен C_{60} взаимодействует с лигандами посредством водородных связей (предположительно через гидратную оболочку), а также стэкинг-взаимодействия уже непосредственно между лигандами и фуллереном.

Посредством кондуктометра Profiline Cond 3110 WTW были получены значения электропроводности σ с помощью кондуктометрического титрования для водных растворов лигандов (рис. 6).

В рамках кондуктометрического титрования была получена удельная электропроводность $\sigma_{уд}$ при различных концентрациях для водных растворов лигандов (рис. 7).

Значения удельной проводимости для кофеина получились сравнительно небольшими. Связано это с тем, что кофеин не диссоциирует на ионы. Исходя из этого, был сделан вывод, что изменение удельной проводимости связано с взаимодействием кофеина с растворителем. В качестве верификации в дальнейшем можно получить зависимость pH от концентрации кофеина и проследить корреляцию проводимости с концентрацией ионов воды. Уменьшение удельной проводимости раствора в связи с вышеуказанным предположением было решено связать с уменьшением удельной SASA.

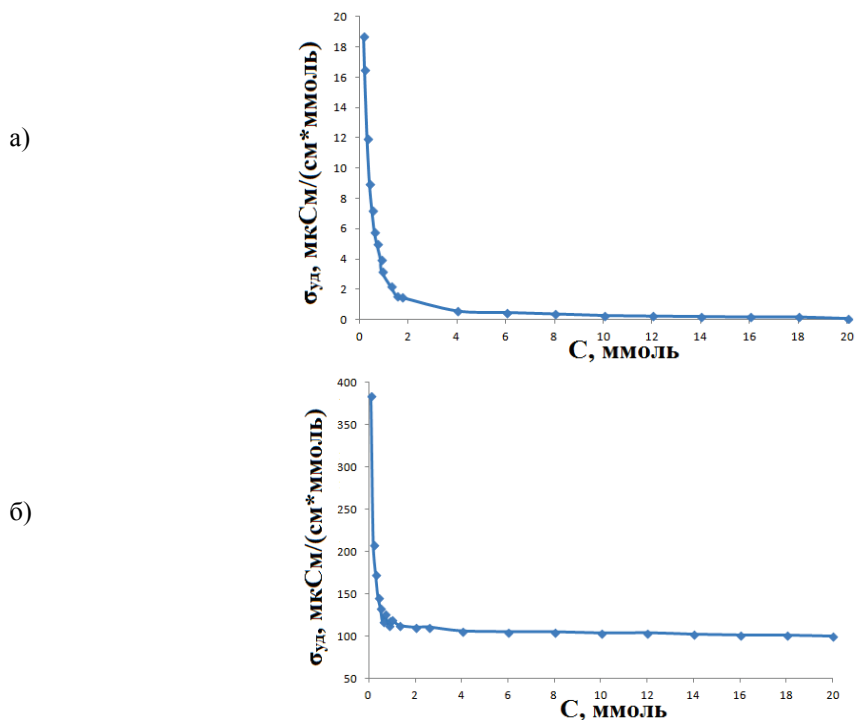


Рисунок 7. Зависимости удельной электропроводности водных растворов кофеина (а) и кофеин-бензоата натрия (б) от концентрации, полученные путем кондуктометрического титрования

Таблица 1. Значения электропроводности водных растворов кофеина в присутствии и отсутствии фуллерена C₆₀

C ₆₀		Кофеин		Кофеин + C ₆₀	
C, ммоль	σ, мкСм/см	C, ммоль	σ, мкСм/см	C, ммоль	σ, мкСм/см
-	2,9	0,16	3	0,16	4,2
		0,4	3,6	0,4	4,5
		0,7	3,5	0,7	4,9

На малых концентрациях водных растворов кофеина и кофеин-бензоата натрия исследовалось комплексообразование с водным раствором фуллерена C₆₀ посредством метода кондуктометрии. Были сняты значения электропроводности на различных концентрациях водных растворов кофеина и кофеин-бензоата натрия в присутствии и отсутствии фуллерена C₆₀; данные приведены в таблицах 1 и 2.

Исходя из полученных зависимостей можно сделать вывод, что проводимость в растворе смеси фуллерена C₆₀ с каждым из лигандов меньше, чем суммарная проводимость чистых растворов фуллерена и лигандов при тех же концентрациях, что и в смеси:

$$\sigma_{mix} < \sigma_{C_{60}} + \sigma_l,$$

где σ_{mix} – проводимость водного раствора смеси фуллерена C₆₀ и лиганда;

$\sigma_{C_{60}}$ – проводимость водного раствора чистого фуллерена C₆₀;

σ_l – проводимость водного раствора чистого лиганда.

Полученные зависимости позволяют сделать вывод о наличии процессов агрегации и взаимодействия лигандов с молекулами растворителя.

Таблица 2. Значения электропроводности водных растворов кофеин-бензоата натрия в присутствии и отсутствии фуллерена C₆₀

C ₆₀		Кофеин-бензоат натрия		Кофеин-бензоат натрия + C ₆₀	
C, ммоль	σ, мкСм/см	C, ммоль	σ, мкСм/см	C, ммоль	σ, мкСм/см
-	2,9	0,1	38,4	0,1	38,1
		0,4	58,5	0,4	48,3
		0,7	88,2	0,7	85,4

Список литературы / References:

1. Перельман Я.М. *Анализ лекарственных форм. Практическое руководство*. Л.: Медгиз, 1961, 616 с. [Perelman Ya.M. *Analysis of dosage forms. A Practical Guide*. L.: Medgiz, 1961, 616 p. (In Russ.)]
2. Guedes R.C.A., De Aguiar M.J.L., Alves-de-aguiar C.R.R. Caffeine and Nutrition: an Overview. *Caffeine: Chemistry, Analysis, Function and Effects*, 2012, pp. 3-21.
3. Prylutsky Y.I., Vereshchaka I.V., Maznychenko A.V., Bulgakova N.V., Gonchar O.O., Kyzyma O.A., Ritter U., Scharff P., Tomiak T., Nozdrenko D.M., Mishchenko I.V., Kostyukov A.I. C₆₀ fullerene as promising therapeutic agent for correcting and preventing skeletal muscle fatigue. *Journal of Nanobiotechnology*, 2017, vol. 15, no. 8, DOI: 10.1186/s12951-016-0246-1.

PECULIARITIES OF FULLERENE C₆₀ BEHAVIOR IN AN AQUEOUS SOLUTION IN THE PRESENCE OF CAFFEINE MOLECULES

Mintyak A.Yu., Golovchenko I.V.

Sevastopol State University

Universitetskaya str., 33, Sevastopol, 299053, Russia; e-mail: golovchenko.igor1991@gmail.com

Abstract. The behavior of fullerene C₆₀ in aqueous solution while titrated by caffeine is observed. By means of IR-spectroscopy and conductometry it is shown, that fullerene C₆₀ aggregates with caffeine ligands, as evidenced of changes in aromatic region in IR-spectra and by difference in conductivities of mixture and solutions of separate components with the same concentration.

Key word: fullerene C₆₀, caffeine, aqueous solution, aggregation.