

УДК 541.8

**РАСЧЕТ ХИМИЧЕСКИХ РАВНОВЕСИЙ В СИСТЕМЕ
Ca²⁺-ГЕПАРИН-АМПИЦИЛЛИН-H₂O-NaCl
В СРЕДЕ ФИЗИОЛОГИЧЕСКОГО РАСТВОРА**

**М.А. Феофанова, Е.В. Журавлев, В.В. Новикова, М.И. Скобин,
Т.В. Крюков**

Тверской государственный университет
кафедра неорганической и аналитической химии

Методами рН-метрии и математического моделирования исследовано взаимодействие высокомолекулярного гепарина с ампициллином и ионами Ca²⁺ в водном растворе при 37 °С на фоне 0.15 М NaCl. Обнаружено образование комплексных форм различного состава и устойчивости. Определены константы устойчивости комплексов.

Ключевые слова: *кислотно-основные равновесия, константы равновесий, гепарин, ампициллин.*

Гепарин – антикоагулянт прямого действия, который вырабатывается в организме человека и животного. В настоящее время его успешно применяют не только в комплексной терапии, связанной с сердечно-сосудистыми заболеваниями, но и при лечении гнойно-воспалительных процессов, требующем в том числе применения антибиотиков[1–5].

В результате такого совместного применения возможно усиление действия одного или обоих компонентов комбинации вплоть до появления токсического эффекта. С другой стороны возможно ослабление эффекта комбинации вплоть до полного терапевтического обесценивания.

Оценка антикоагулянтной активности гепарина – оценка снижения равновесной концентрации иона Ca²⁺, участника реакций коагулянта крови из-за образования комплекса Ca²⁺ с гепарином. Отсюда целью нашей работы является исследование кислотно-основных равновесий в системе с участием иона Ca²⁺, гепарина и ампициллина – антибиотика β-лактаманного класса, выявление образующихся комплексных форм.

Нами использовался высокомолекулярный гепарин, трижды сульфатированное мономерное звено которого представляет собой дисахарид, имеющий обозначение: уроновая кислота (2S) –(1 → 4)- D – глюкозамин- GlcNS(6S). Усредненная молекулярная масса дисахаридов составляет 610.8 атомных единиц (1 ЕД гепарина = 0,0077 мг гепарина). За базисный термодинамический компонент раствора принималась

концентрация аниона трижды сульфатированного мономерного звена гепарина Hep^{4-} :

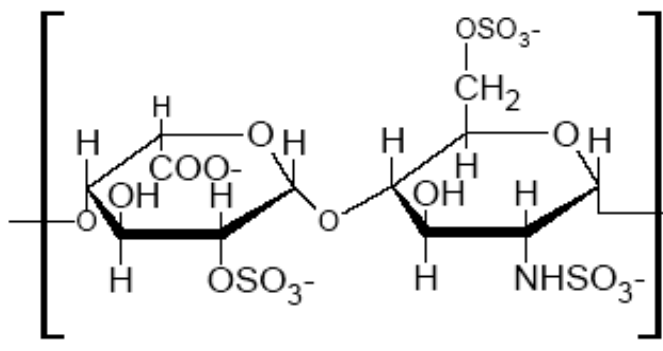


Рис. 1. Структурная формула мономерного дисахаридного звена гепарина состава 4-L-IdoA2S- α -4-D-GlcNS,6S- α -1

Ампициллин – антибиотик группы полусинтетических пенициллинов широкого спектра действия. Пеницилинами называют группу природных и полусинтетических антибиотиков, молекулы которых соответствуют общей структурной формуле.

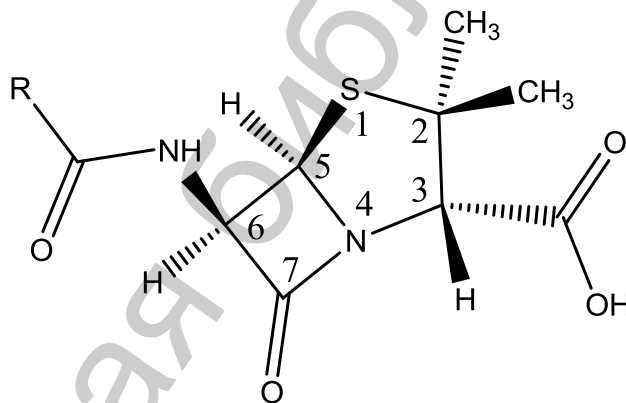


Рис. 2. Структурная формула молекул пенициллинов

Молекулы всех пенициллинов содержат четырехчленный бета-лактамный цикл, вследствие чего эти соединения относят к классу бета-лактамных антибиотиков. К этому классу относят также монобактамы,

клавамы, пенемы, оксапенемы, карбапенемы, цефамицины, оксацефемы и карцефемы, однако они не нашли пока такого широкого применения в медицинской практике, как пенициллины.

Экспериментальная часть

Исследование проводили с использованием в качестве источника гепарина раствора его тетранатриевой соли, упакованной во флаконы по 5 мл с концентрацией 5000 ЕД в одном миллилитре (1 ЕД соответствует 0,0077 мг гепарина). Производитель –Московский эндокринный завод. Квалификация препарата натриевой соли ампициллина соответствовала «ч.д.а.» (производство ОАО «Биохимик»). Раствор хлорида кальция готовили растворением навески соли в бидистилляте с последующей стандартизацией при помощи комплексонометрического титрования. Квалификация исходных препаратов соли кальция – «ч.д.а.». Раствор соляной кислоты готовили из фиксаля и стандартизировали по тетраборнокислому натрию.

При исследовании взаимодействий кальция, гепарина и ампициллина аликвоты растворов исходных компонентов помещали в мерную колбу на 100 мл, добавляли рассчитанное количество 1,50 М раствора хлорида натрия для поддержания постоянной ионной силы и доводили водой до метки. Содержимое колбы термостатировалось 30 минут в ультратермостате UTU-2/77 при 37 °С. Заданная температура поддерживалась с точностью до 0,1 °С.

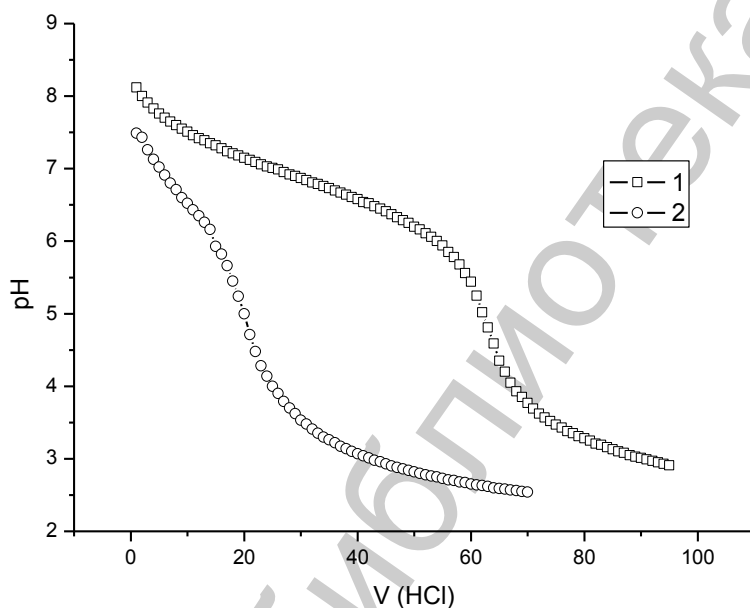
Измерения рН при рН-потенциометрическом титровании проводили с помощью цифрового иономера марки «Аквилон» рН410 с точностью измерения величин рН 0,01, а также комбинированного электрода марки Аквилон ЭСЛК-01.7. Калибровку иономера в режиме измерения величин рН проводили по стандартным буферным растворам со значениями рН, равными 1,65 и 9,18, делая поправку на температуру 37 °С. Содержимое колбы переносили в термостатированную ячейку и титровали из микробюретки стандартным раствором соляной кислоты.

Обсуждение результатов

Проведение экспериментов в среде разбавленного физиологического раствора с постоянной ионной силой 0,15 М NaCl и концентрациях компонентов в концентрационной шкале 10^{-m} ($m \geq 3$) позволяет элиминировать как гидратацию комплексов, не вносящую значимый вклад в структуру воды, так и электростатические взаимодействия ионов исследуемых электролитов, перекрываемые потенциалом сильного фонового электролита 0,15 М NaCl в соответствии с принципом Бренстеда о постоянстве ионной среды.

Исследованию системы $\text{CaCl}_2 - \text{Na}_4\text{Hep} - \text{NaAmp} - \text{H}_2\text{O} - \text{NaCl}$ предшествовало изучение химических равновесий во всех составляющих подсистемах по независимым данным рН-метрии этих подсистем. Кислотно-основные свойства гепарина и его взаимодействие с ионами кальция в среде физиологического раствора изучены в [6]. Данные по кислотно-основным свойствам ампициллина представлены в монографии [7].

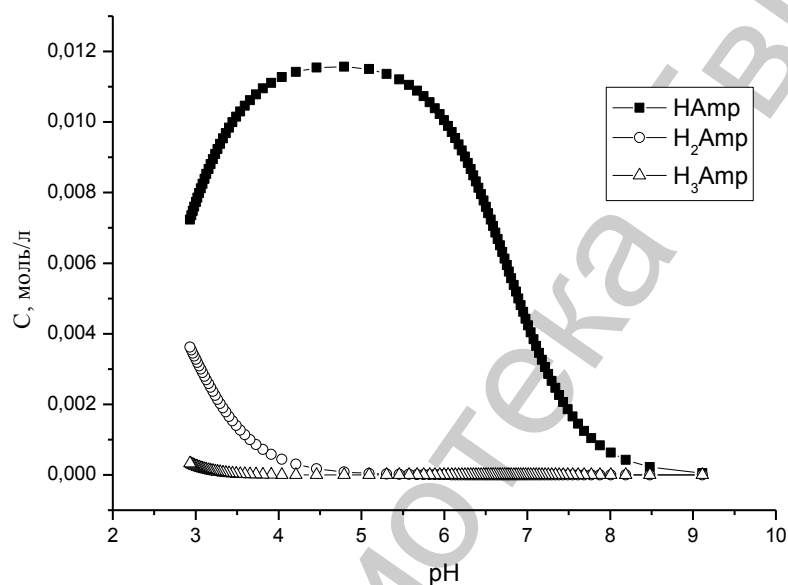
Исследованы химические свойства равновесия в подсистемах: $\text{NaAmp} - \text{NaCl} - \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_4\text{Hep} - \text{NaAmp} - \text{NaCl} - \text{H}_2\text{O}$. На рис. 3 представлены кривые рН-метрического титрования водных растворов $\text{NaAmp} - \text{NaCl} - \text{H}_2\text{O}$, $\text{Na}_4\text{Hep} - \text{NaAmp} - \text{NaCl} - \text{H}_2\text{O}$.



Р и с . 3. Кривые рН-метрического титрования водных растворов NaAmp и $\text{NaAmp} - \text{Na}_4\text{Hep}$: 1 – NaAmp раствором 0,102 М HCl в присутствии 0,15 М NaCl и температуре 37 °С. 2 – $\text{NaAmp} - \text{Na}_4\text{Hep}$ раствором 0,102 М HCl в присутствии 0,15 М NaCl и температуре 37 °С

Все расчеты моделей равновесий производились по разработанным алгоритмам, реализованным в универсальной компьютерной программе New DALSFЕК (КСМ Soft, 2000 г.). После обработки кривой титрования водного раствора $\text{NaAmp} - \text{NaCl} - \text{H}_2\text{O}$ получена модель, включающая три протонированные формы: HAmp , H_2Amp^+ , $\text{H}_3\text{Amp}^{2+}$. Рассчитанные оценки соответствующих констант

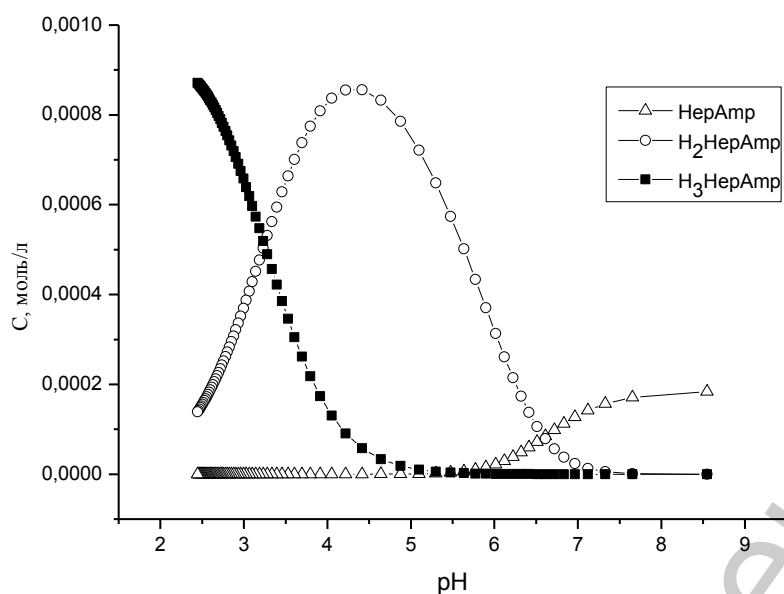
протонирования совпадают с литературными данными[7]. Концентрационная диаграмма распределения протонированных форм ампициллина представлена на рис. 4, из которого следует доминирование HAmp формы во всем интервале рН.



Р и с . 4 . Концентрационная диаграмма распределения комплексных форм в системе $\text{NaAmp} - \text{NaCl} - \text{H}_2\text{O}$ в зависимости от рН в присутствии 0,15 М NaCl и при температуре 37 °С

Взаимодействие гепарина с ампициллином исследовано по данным рН-метрического титрования растворов $\text{Na}_4\text{Hep} - \text{NaAmp} - \text{H}_2\text{O} - \text{NaCl}$ в интервале $2,3 \leq \text{pH} \leq 8,0$ при соотношении компонентов 1:1.

Распределение молекулярных форм в растворе $\text{Na}_2\text{Hep} - \text{NaAmp} - \text{H}_2\text{O} - \text{NaCl}$ представлено концентрационной диаграммой на рис. 5.



Р и с . 5. Концентрационная диаграмма распределения комплексных форм в системе NaAmp – Na₄Her в зависимости от pH в присутствии 0,15 М NaCl и температуре 37 °С

В системе обнаружены протонированные комплексы состава H₂HerAmp³⁻, H₃HerAmp²⁻ и средний комплекс состава AmpHer⁵⁻, определены логарифмы констант образования комплексов. Как следует из диаграммы распределения, в широком интервале pH доминирует комплексная форма состава H₂HerAmp³⁻.

Список литературы

1. Romac Diane R., Albertson Timothy E. // Clinics in Chest Medicine. 1999. V. 20, № 5, P. 385–399.
2. Matthew E. Falagasa, Konstantinos Z. Vardakasa, Stavros Athanasioud // European J. of Pharmacology. 2007. V. 557, № 2–3, P. 93–98.
3. Vercaigne LM, Sitar DS, Penner SB, Bernstein K, Wang GQ, Burczynski FJ. // J. of Pharmacotherapy. 2000. V. 20, № 4, P. 394–399.
4. Panhotra BR, Ali M Al-Arabi Al-Ghamdi, Anil K Saxena // Saudi Journal of Kidney Diseases and Transplantation. 2004. V. 15, № 1, P. 67–69.
5. Генюк В. Я., Пархисенко Ю.А. // Журнал Эндоскопическая хирургия. 2007. № 6, С. 36–38.
6. Карпухин Л.Е., Николаева Л.С., Мамонтов М.Н., Добрынина Н.А., Феофанова М.А. // Журнал неорганической химии. 2006. Т. 51, № 6, С. 979–985.

7. Алексеев В.Г. Бионеорганическая химия пенициллинов и цефалоспоринов: монография. Тверь: Твер. гос. ун-т, 2009. 104 с.

**CALCULATION OF CHEMICAL BALANCES IN THE SYSTEM
Ca²⁺-GEPARIN-AMPITSILLIN-H₂O-NaCl IN THE ENVIRONMENT
OF PHYSIOLOGICAL SOLUTION**

**M. A. Feofanova, E. V. Zhuravlev, V. V. Novikova, M. I. Skobin,
T.V. Kryukov**

Tver State University
Division of inorganic and analytical chemistry

Using method of pH-metric titration and mathematical modeling we investigated interaction of high-molecular heparin and ampicillin and Ca²⁺ ions in water solution at 37 °C against 0.15 M NaCl. Formation of complex forms of various structure and stability is revealed. Constants of stability of complexes are defined.

Об авторах:

ФЕОФАНОВА Марианна Александровна – кандидат химических наук, доцент, заведующий кафедрой неорганической и аналитической химии ТвГУ, e-mail: m000371@tversu.ru

ЖУРАВЛЕВ Евгений Вячеславович – аспирант кафедры неорганической и аналитической химии ТвГУ. e-mail: evgeniy-zhuravlev@mail.ru

НОВИКОВА Виктория Владимировна – студентка химико-технологического факультета ТвГУ. e-mail: novikovaviktori@yandex.ru

СКОБИН Михаил Игоревич – студент химико-технологического факультета ТвГУ. e-mail: poiuytrew246813@yandex.ru

КРЮКОВ Тимофей Владимирович – студент химико-технологического факультета ТвГУ. e-mail: killer713@yandex.ru