

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКОЕ ИССЛЕДОВАНИЕ СИСТЕМЫ Gd^{3+} - Hep^{4-} - Gly⁻ - H₂O

М.И. Скобин, Т.В. Крюков, М.А. Феофанова, С.С. Рясенский

Тверской государственной университет, г. Тверь

Методом потенциометрического титрования исследована система при ионной силе фонового электролита KNO_3 0.1 М и температуре 37 °С, основными компонентами которой, являются частицы: Gd^{3+} , Hep^{4-} , Gly⁻.

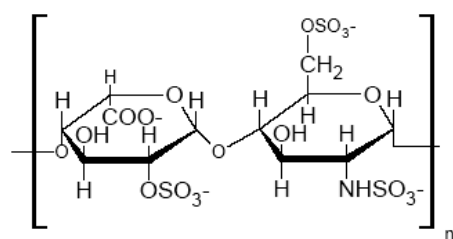
Проведено математическое моделирование исследуемой системы на основе полученных рН-метрических данных. Составлена компонентная матрица для исследуемой системы; определены самые значимые комплексные формы, образующиеся в системе в диапазоне рН от 2 до 9; рассчитан логарифм константы образования для комплексной формы $[GdGlyHep]^{2-}$.

Ключевые слова: гепарин, РЗЭ, глицин, константа устойчивости, математическое моделирование, смешаннолигандные комплексы, рН-метрия.

В настоящее время гепарин, как эффективный и нетоксичный антикоагулянт имеет широкое распространение в медицинской практике [1].

Это обстоятельство обуславливает его широкое применение в клинике. Несмотря на то, что гепарин относится к одной из наиболее изученных в химическом отношении молекул нашего организма, исчерпывающей информации об его биологической активности и роли в биохимических процессах, протекающих в живых системах все еще нет.

В силу своих структурных особенностей, гепарин, представляющий собой гетерогенную смесь сульфатированных полисахаридных цепей, построенных из повторяющихся единиц D-глюкозамина и L-идуроновой кислоты:



Структурная формула мономерного звена гепарина

Наличие в структуре полимерной цепи гепарина достаточно большого количества кислородсодержащих донорных группировок (сульфатные и карбоксильные группы, гликозидные атомы кислорода,

гидроксильные группы), а также сульфамидных групп определяет широкие координационные возможности этого соединения. Анализируя структуру мономерного звена гепарина, приведенную на схеме выше, можно предположить, что дентатность такого лиганда должна быть достаточно высокой, и быть равной, как минимум, четырем [2].

Что касается аминокислоты, то глицин активно участвует в обеспечении кислородом процесса деления клеток. Он является важным компонентом выработки гормонов, участвующих в функционировании иммунной системы. Глицин является исходным материалом для синтеза других аминокислот, а также донором аминогруппы при синтезе гемоглобина и других веществ [3].

Лантаноиды, в том числе и Gd, оказывают различное физиологическое воздействие на растения и животных и в основном считаются низкотоксичными [4].

Существует гипотеза, что в живых организмах редкоземельные элементы выполняют одинаковую функцию с кальцием. Из-за этого они и скапливаются в органах, содержание кальция в которых больше по сравнению с остальными. В грунтах содержание РЗЭ достигает 0,24 %. Из грунтов данные элементы попадают в растения. Наблюдается повышенное содержание в люпине, сахарной свёкле, чернике, разных водорослях и некоторых других растениях. В молоке, крови и костях животных, выявлено присутствие металлов цериевой группы [5].

На данный момент использование лантаноидов в медицине принимает все больший размах. Фармакологические свойства лантаноидов таковы, что их содержание в организме снижает кровяное давление, уровень холестерина и глюкозы, уменьшает аппетит, препятствует свертыванию крови и предотвращает атеросклероз у подопытных животных. Потенциальное преимущество использования веществ в медицине с такими фармакологическими свойствами заставляет все больше исследователей обратить на них свое внимание. Некоторые комплексы лантаноидов оказывают противовоспалительное воздействие; например, флогодин (англ. phlogodyn) довольно широко применяется в Венгрии [6].

Анализируя свойства лантаноидов, стоит подчеркнуть их высокую антикоагулянтную активность. При внутривенном введении растворов солей РЗЭ эффект наступает практически мгновенно и продолжается в убывающей степени около суток [7].

В свободном состоянии ионы Gd^{3+} токсичны, но хелатные соединения, применяемые в магнитно-резонансной томографии, считаются достаточно безопасными. Токсичность зависит от силы хелатирующего агента. Анафилактические реакции происходят редко: приблизительно в 0.03—0.1 % случаев [8].

Из всего вышеизложенного со всей очевидностью вытекает целесообразность исследования комплексобразования РЗЭ с гепарином

и аминокислотами (глицин). Ионы РЗЭ (в частности Gd) усилят антикоагулянтную активность гепарина, а гепарин и аминокислота, образуя с ними хелатные комплексы, снизит их токсичность до приемлемого уровня. Последнее позволит безопасно объединить применение антикоагулянтной терапии с гепарином и магнитно-резонансной томографии, снизить риски, повысить эффективность и удешевить процесс лечения.

Сейчас данные по комплексообразованию в системе вида: Gd^{3+} - $Нер^{4-}$ - Gly^- - H_2O , отсутствуют. Поэтому целью данной работы является выявление образующихся комплексных форм и их констант образования в исследуемой системе (особенный акцент ставится на тройные комплексы гепарина с гадолинием и глицином). Для достижения цели система была исследована методом рН-метрии, и на основе полученных данных было проведено математическое моделирование.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В данной работе для изучения химических равновесий в системах, содержащих гепарин, ионы Gd^{3+} и аминокислоту глицин (Gly^-) использовался стандартный фармакологический раствор гепарина (12000 Да) в форме тетранатриевой соли, производства «Московский эндокринный завод» - каждый миллилитр такого раствора содержал 5000 ЕД (1 ЕД = 0,0077 мг гепарина) или 38.5 мг соли.

Титрант — бескарбонатный раствор гидроксида натрия готовили растворением необходимого количества 50% раствора NaOH в предварительно прокипяченной воде с последующей стандартизацией путем титрования навески сульфаминовой кислоты, предварительно очищенной перекристаллизацией.

Для приготовления основного раствора в колбу на 100 мл были добавлены заданные количества растворов глицина (имел квалификацию "ч.д.а."), гепарина и Gd^{3+} с заданными концентрациями, некоторое количество фонового электролита KNO_3 для поддержания постоянной ионной силы, а также 0.1 М HCl для протонирования Gly^- и $Нер^{4-}$. Далее доводили дистиллированной водой до 100 мл и опускали в ультратермостат UTU-2/77 на 15 минут, после чего приступали к титрованию.

Измерения значений рН проводили с помощью И-135, укомплектованного измерительным стеклянным электродом ЭСЛ 63-07 и насыщенным хлоридсеребряным электродом сравнения. Перед началом титрования была проведена калибровка рН-метра с помощью стандартных буферных растворов с величинами рН, равными 1.65 и 9.18, с учетом поправки на температуру. Титрование проводилось на фоне 0.15 М хлорида натрия.

Было учтено, что высокомолекулярный гепарин образует с ионами Gd^{3+} как монолигандные комплексы, так и смешаннолигандные (обуславливается рядом факторов: конформация полимерной цепи, стерические факторы), мономерное звено гепарина выступает в данном случае в качестве четырехдентатного лиганда [9].

По уравнению материального баланса и закона действующих масс для функции pH по базисным компонентам для всех имеющихся систем была составлена математическая модель. Расчеты моделей химических равновесий и определение соответствующих констант выполнены с помощью комплекса вычислительных программ New DALSFEEK (KCM Soft, 2000).

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Для исследования системы Gd^{3+} - Gly⁻ - Hep⁴⁻ - H₂O было проведено pH-метрическое титрование. Кривая титрования приведена на рисунке 1. На графике отчетливо видно два скачка титрования.

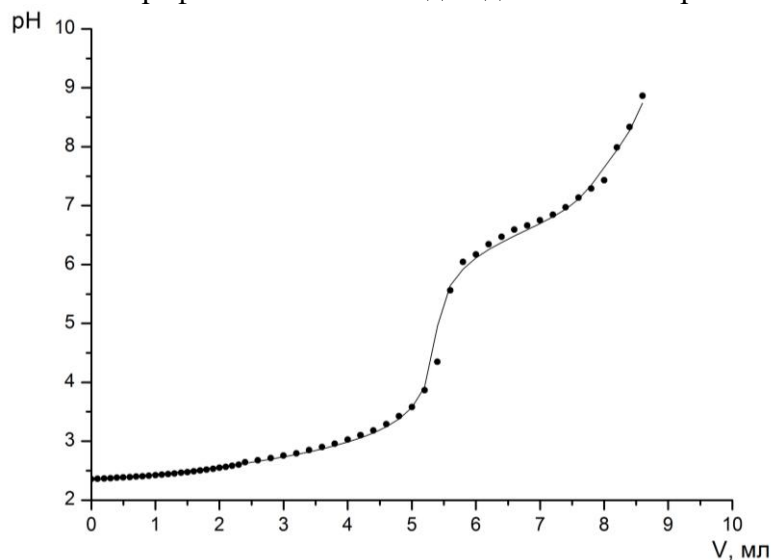


Рис.1. Кривая титрования системы Gd^{3+} - Gly⁻ - Hep⁴⁻ - H₂O ($C_{Gd^{3+}} = 1.26 \cdot 10^{-3}$ M, $C_{Hep^{4-}} = 1.26 \cdot 10^{-3}$ M, $C_{Gly^{3+}} = 1.26 \cdot 10^{-3}$ M, $C_{HCl} = 0.00604$ M, $C_{NaOH} = 0.1126$ M). Температура 37°C, фоновый электролит 0.12 M KNO₃. На кривой титрования точки – эксперимент, линия – математическое моделирование.

Судя по полученным константам образования, первый скачок соответствует образованию $[GdGlyHep]^{2-}$; второй скачок начинается в щелочной области и, вероятнее всего, соответствует образованию комплексной формы $[Gd(OH)_3Gly]^-$. В определенный момент титрование пришлось остановить, при pH > 8.3 гомогенность системы была нарушена, наблюдалась слабая опалесценция. А так как термодинамическая модель, на которой работает комплекс вычислительных программ New DALSFEEK (KCM Soft, 2000), построена

только лишь для гомогенных систем, оценка величин логарифмов констант образования комплексных форм в негетогенной системе будет неправомерной.

При расчете массив рН-метрических данных минимизировали, руководствуясь следующим соображением: массив данных наращается до появления опалесценции титруемого раствора, обусловленной образованием нерастворимой твердой фазы.

Возможностью образования полимерных гидроксокомплексов лантаноидов пренебрегли, так как такие формы существуют только в концентрированных растворах: $C_{Ln^{3+}}$ от 0.1 до 1.0 моль/л [10].

Спектр возможных молекулярных форм исследуемой системы Gd^{3+} - Hep^{4-} - Gly^- - H_2O задан расширенной компонентной матрицей стехиометрических коэффициентов этих форм в термодинамическом базисе H^+ , Gly^- , Gd^{3+} , Hep^{4-} (Таблица 1).

Таблица 1.

Компонентная матрица системы: Gd^{3+} - Hep^{4-} - Gly^- - H_2O .

№	Молекулярная форма	$lg(\beta_i)$	H^+	Gly^-	Gd^{3+}	Hep^{4-}	Источник
1	H^+	0	1	0	0	0	—
2	Gly^-	0	0	1	0	0	—
3	Gd^{3+}	0	0	0	1	0	—
4	Hep^{4-}	0	0	0	0	1	—
5	OH^-	-13.50	-1	0	0	0	[11]
6	$[GdOH]^{2+}$	-7.29	-1	0	1	0	[9]
7	$[Gd(OH)_2]^+$	-14.58	-2	0	1	0	наши данные
8	$Gd(OH)_3$	-25.78	-3	0	1	0	[12]
9	$[HHeP]$	3.790	1	0	0	1	[9]
10	$HGly$	9.6	1	1	0	0	[13]
11	$[GdGly]^{2+}$	4.64	0	1	1	0	[14]
12	$[GdGly_2]^+$	7.19	0	2	1	0	[14]
13	$[GdHeP]^-$	5.38	0	0	1	1	[9]
14	$[GdOHHeP]^{2-}$	-2.18	-1	0	1	1	[9]
15	$Gd(OH)_2Gly$	$lg\beta_1$	-2	1	1	0	наши данные
16	$[Gd(OH)_3Gly]^-$	$lg\beta_2$	-3	1	1	0	наши данные
17	$GdHHeP$	$lg\beta_3$	1	0	1	1	наши данные
18	$[GdGlyHeP]^{2-}$	18.07 ± 0.07	0	1	1	1	наши данные

По результатам математического моделирования было установлено, что образуется средний комплекс $[GdGlyHep]^{2-}$, который, вероятнее всего, будет преобладать в системе при $pH < 7$. Константа данного соединения равняется 18.07 ± 0.07 , что говорит о его большой устойчивости.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Белоусов, Ю.Б. Клиническая фармакология и фармакотерапия / Ю.Б. Белоусов, В.С. Моисеев, В.К. Лепяхин. — М.: Универсум, 1993. — С. 398.
2. Rudd, T. R. Site-specific interactions of copper(II) ions with heparin revealed with complementary (SRCD, NMR, FTIR and EPR) spectroscopic techniques / T.R. Rudd, M. A. Skidmore et al. // Carbohydrate Res. — 2008. — V. 343. — P. 2184 - 2193.
3. Гусев, Е.И. Нейропротективная терапия в остром периоде церебрального ишемического инсульта / Е.И. Гусев, В.И. Скворцова // Клинический Вестник. 2. — 1995. — С. 6.
4. Franz Goecke, Celia G. Jerez, Vilém Zachleder, Félix L. Figueroa, Kateřina Bišová, Tomáš Řezanka and Milada Vítová Use of lanthanides to alleviate the effects of metal ion-deficiency in *Desmodesmus quadricauda* (Sphaeropleales, Chlorophyta) // Frontiers in Microbiology. — 2015. — V. 6.
5. Голуб, А. М. Общая и неорганическая химия. — К.: Высшая школа, 1971. — Т. 2. — С. 416.
6. Evans, C. H. Biochemistry of the Lanthanides. — Springer US, 1990. — V. 8. — P. 444.
7. Чазов, Е.И. Антикоагулянты и фибринолитические средства / Е.И. Чазов, К.М. Лакин. — М.: Медицина, 1975.
8. Rim Kyung Taek, Koo Kwon Ho, Park Jung Sun. Toxicological Evaluations of Rare Earths and Their Health Impacts to Workers: A Literature Review // Safety and Health at Work. — 2013. — V. 4, № 1. — P. 12-26.
9. Семенов, А.Н. Физико-химические закономерности образования металлокомплексов ионов некоторых s-, d- и f-элементов с гепарином: диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук: 02.00.04 / Семенов Артем Николаевич. — Тверь, 2010. — 130 с.
10. Яцимирский, К.Б. Химия комплексных соединений редкоземельных элементов / К.Б. Яцимирский, Н.А. Костромина и др. — Киев: Наукова думка. - 1966.
11. Stability Constants Database. Academic Software. Timble, Otley, Yorks. LS21 2PW, U.K., 1993. [79MTb].
12. Martell, A.E. Critical stability constants. V.4: Inorganic complexes / A.E.Martell, R.M. Smith. — New-York.: Plenum Press. — 1976.
13. Kiss, T. Critical survey of stability constants of complexes of glycine / T. Kiss, I. Sovago and (late) A. Gergely. // Pure & Appl. Chem. — 1991. — V. 63, № 4. — P. 597-638.
14. Patel, A. Spectral, Thermal, Electrical and Antimicrobial studies of some complexes derived from 7-(α -phenyl- α m/p-nitroanilinomeyhyal)-8-quinolinol / A. Patel, J. Joshi. // J.Indian Chem.Soc. — 1996. — V. 73. — P.71.

**PHYSICAL AND CHEMICAL STUDY OF SYSTEM
Gd³⁺- Hep⁴⁻ - Gly⁻ - H₂O**

M.I. Skobin, T.V. Kryukov, M.A. Feofanova, S.S. Ryasenskiy

Tver State University

The aim of this work was to study complexation processes in this system using potentiometric titration method. This system was studied in the following conditions: background electrolyte 0.1 M KNO₃; temperature 37° C. Basic forms in this system can be chosen as following: Gd³⁺, Hep⁴⁻, Gly⁻. As the result, after processing of titration curves using methods of mathematical modeling were obtained equilibria models, including the most likely possible forms in pH interval from 2 to 9. This data helped us to estimate the value of the stability constant of the ternary complex form [GdGlyHep]²⁻.

Keywords: *heparin, rare-earth elements, glycine, stability constants, mathematical modeling, mixed ligand complexes, pH-metric titration.*

Об авторах:

СКОБИН МИХАИЛ ИГОРЕВИЧ – аспирант, ФГБОУ ВПО «Тверской государственной университет», e-mail: Skobin.MI@tversu.ru

КРЮКОВ ТИМОФЕЙ ВЛАДИМИРОВИЧ – аспирант, ФГБОУ ВПО «Тверской государственной университет», e-mail: tvkryukov@edu.tversu.net

ФЕОФАНОВА МАРИАНА АЛЕКСАНДРОВНА – к.х.н., доцент, ФГБОУ ВПО «Тверской государственной университет», e-mail: Feofanova.MA@tversu.ru

РЯСЕНСКИЙ СЕРГЕЙ СТАНИСЛАВОВИЧ – к.х.н., доцент, ФГБОУ ВПО «Тверской государственной университет», e-mail: Ryasenskiy.SS@tversu.ru

Поступила в редакцию 24 сентября 2018 года