

Н. Ш. Кайшева, А. Ш. Кайшев

**ИЗУЧЕНИЕ МЕЖФАЗНОГО РАСПРЕДЕЛЕНИЯ ПОЛИУРОНИДОВ В СИСТЕМЕ ДВУХ НЕСМЕШИВАЮЩИХСЯ РАСТВОРИТЕЛЕЙ**

Пятигорский медико-фармацевтический институт — филиал ГБОУ ВПО ВолгГМУ Минздрава России, Пятигорск, Россия

Определены коэффициенты распределения полиуронидов и их солей (пектина, альгината натрия, пектината кальция, альгината кальция) в системе вода — октанол-1 в зависимости от температуры и реакции среды. Установлено изменение термодинамических функций, сопровождающих межфазное распределение (энтальпия, энтропия, свободная энергия Гиббса) для оценки возможности самопроизвольного протекания процесса распределения. Полученные результаты позволили прогнозировать фармакокинетические свойства полиуронидов при распределении в биологических субстратах.

**Ключевые слова:** полиурониды; распределение в биологических субстратах.

Актуальность разработки лекарственных препаратов — энтеросорбентов тяжелых металлов и радионуклидов — связана со сложной экологической обстановкой, вызванной широким применением атомной энергии, радиоактивных изотопов, тяжелых металлов в различных областях промышленности. К числу перспективных антидотов, отличающихся высокой эффективностью и биологической совместимостью с организмом человека, относят полиурониды (кислые полисахариды) — пектины и альгинаты [1]. Их внедрение в фармацевтическую практику в качестве лекарственных препаратов детоксического действия требует изучения фармакокинетических свойств, поскольку в оценке биологического действия одним из ключевых моментов является распределение веществ в биологических субстратах, определяющее всасывание и избирательность взаимодействия с биологическими структурами. Предварительным прогнозом для оценки фармакокинетических свойств является исследование межфазного распределения исследуемых веществ в опытах *in vitro*, что определило цель работы.

Целью исследования явилось изучение распределения полиуронидов в системе 2 несмешивающихся жидкостей для прогнозирования накопления полиуронидов в гидрофильных и гидрофобных биологических субстратах.

*Экспериментальная часть*

Коэффициенты распределения ( $K_{\text{расп.}}$ ) определены как величины, соответствующие отношению концентраций полиуронидов или их солей в слое полярного и неполярного растворителей с учетом степени ассоциации веществ ( $n$ ) [2]. Анализ исходной ( $C_0$ ) и равновесной ( $C_1$ ) концентраций полиуронидов в водной среде проведен методом кислотно-основного титрования [3], кальциевых солей полиуронидов — методом комплексиметрического титрования [3]. Равновесная концентрация полиуронидов и их солей в слое неполярного растворителя ( $C_2$ ) вычислена как разность между  $C_0$  и  $C_1$ . Расчетным способом [4, 5] вычислены изменения термодинамических функций: энтальпии ( $\Delta H^\circ$ ), эн-

тропии ( $\Delta S^\circ$ ), свободной энергии Гиббса (изобарно-изотермического потенциала  $\Delta G^\circ$ ) и энтропийной составляющей ( $T \cdot \Delta S^\circ$ ), сопровождающих межфазное распределение полиуронидов.

В качестве системы 2 несмешивающихся жидкостей выбрана смесь вода — октанол-1, в которой вода служила моделью гидрофильных, а октанол-1 — гидрофобных биологических субстратов. Выбор октанол-1 среди различных неполярных растворителей (бутанол-1, бутанол-2, пентанол-1, пентанол-3, бутилацетат, гептан, ксилол) обусловлен оптимальным соотношением его гидрофильных и липофильных свойств [2]. Значения pH приготовленных водных растворов альгината натрия (**Na-I**) (0,02 – 0,30 моль/л), свекловичного пектина (**II**) (0,02 – 0,11 моль/л), пектината кальция (**Ca-II**) (0,05 – 0,31 %), альгината кальция (**Ca-I**) (0,05 – 0,31 %) доводили до величины 2,0 или 7,8 соответственно 1 моль/л растворами кислоты хлористоводородной и гидроксида натрия. Водные растворы смешивали с равными объемами октанол-1, интенсивно встряхивали до установления равновесного состояния при температурах 280, 294, 310 К.

Наличие диссоциации или ассоциации полиуронидов в неполярном растворителе оценивали по тангенсу угла наклона прямой, построенной в графической системе координат « $\lg C_2 = f(\lg C_1)$ ».

Учитывая, что исследуемые растворы достаточно разбавлены, изменение энтальпии и энтропии приравнивали к изменениям соответствующих стандартных потенциалов [4]. Термодинамические потенциалы процесса перехода полиуронидов рассчитаны по известным уравнениям:  $\Delta H^\circ$  — по уравнению Вант-Гоффа (1),  $\Delta S^\circ$  — по уравнению (2),  $\Delta G^\circ$  — по уравнению Гиббса-Гельмгольца (3) и через коэффициенты распределения (4) [4, 5]:

$$\Delta H^\circ = [\ln(K_{\text{расп.2}}/K_{\text{расп.1}})(T_2 T_1 R)] / (T_2 - T_1), \quad (1)$$

$$\ln K_{\text{расп.}} = (-\Delta H^\circ / RT) + (\Delta S^\circ / R), \quad (2)$$

$$\Delta G^\circ = \Delta H^\circ - T \Delta S^\circ, \quad (3)$$

$$\Delta G^\circ = -RT \ln K_{\text{расп.}} \quad (4)$$

**Na-I** использовали производства Архангельского опытно-водорослевого комбината, выделенный из ламинарии сахаристой *Laminaria saccharina* (L.) и соответствующий по качеству требованиям ГОСТ 26185–84 “Водоросли морские, травы морские и продукты их переработки. Методы анализа”.

**II** выделяли из свекловичных выжимок путем последовательных операций согласно [6]. Полученный **II** соответствует требованиям ВФС 42-3433-99 “Пектин”.

Кроме того, исследованы **Ca-II** и **Ca-I**, полученные в твердом состоянии путем смешивания 0,1 моль/л водного раствора хлорида кальция с 0,25 % водным раствором **II** или **Na-I** в объемном соотношении 1:10, интенсивного перемешивания смеси и выдерживания ее при комнатной температуре в течение 3 ч. Выделившиеся гелеподобные осадки центрифугировали, трижды промывали водой в соотношении 1:4 в течение 15 мин, высушивали при температуре 60 °С до сухого состояния [7].

#### Результаты и их обсуждение

Полученные величины коэффициентов распределения и степени ассоциации ( $n = 7$ ) полиуронидов в системе вода — октанол в зависимости от температуры и рН среды представлены в табл. 1.

В 15 раз более интенсивный переход **II**, чем **Na-I**, из воды в фазу октанола-1 при температуре 310 К, по-видимому, объясняется лучшим распределением в неполярном слое слабых электролитов, к числу которых относится **II**. Подобный переход практически не наблюдается для **Ca-II** и **Ca-I**, представляющих собой крупные структуры типа “яичной коробки” [1]. Увеличение коэффициентов распределения **II** и **Na-I** при понижении температуры, очевидно, является следствием снижения степени диссоциации.

Смена “лучшего” растворителя (воды) на “худший” растворитель (октанол-1) для **Na-I** и **II** ведет к агрегации молекул полиуронидов и смещению межмолекулярного адсорбционного равновесия от системы “по-

лиуронид ↔ вода” к системе “полиуронид ↔ полиуронид”, т.е. в сторону дегидратации молекул полиуронида. Некоторое влияние на агрегацию молекул полиуронида оказывают и индивидуальные свойства октанола-1, выражающиеся во взаимодействии его молекул с молекулами воды и полимера. Как энергия связи молекул друг с другом, так и энергия их сольватации, зависит от массовой доли свободных карбоксильных групп полиуронида, от степени их насыщения катионами кальция. Наличие в полиуронидах катионов натрия способствует возрастанию степени диссоциации и отталкиванию одноименно заряженных анионов, в результате чего межмолекулярная ассоциация невозможна. При неполной диссоциации энергия связи между диполями RCOOMe (Me — металл) должна быть, по-видимому, такой же, как и между эфирными группами RCOOCH<sub>3</sub>, но для солей металлов возможно образование ионной связи типа RCOO-Me-OOCR, энергия которой, как всякой ионной, должна быть в несколько раз выше энергии водородной связи. Вероятно, энергия связи молекул полиуронидов возрастает в ряду -COONa < -COOCH<sub>3</sub> < -COOH < -(COO)<sub>2</sub>Ca; в несколько иной последовательности изменяется энергия гидратации: -COOCH<sub>3</sub> < -COOH ≈ (COO)<sub>2</sub>Ca < -COONa.

Поскольку при высокой энергии связи молекул полиуронидов увеличивается их способность к ассоциации, а при высоких значениях энергии сольватации ассоциирующая способность понижается, суммарный результат влияния этих факторов не всегда можно предвидеть. Однако ясно, что взаимному связыванию

Таблица 1  
Зависимость коэффициентов распределения и степени ассоциации полиуронидов и их солей от температуры и рН среды

Соединение	Температура, К			рН среды при 310 К	
	280	294	310	2,0	7,8
Коэффициенты распределения					
<b>II</b>	10,27	6,46	5,23	7,89	3,34
<b>Na-I</b>	3,09	0,91	0,35	0,67	—
<b>Ca-II</b>	$5,69 \cdot 10^{-4}$	$38,24 \cdot 10^{-4}$	—	—	—
<b>Ca-I</b>	$1,01 \cdot 10^{-5}$	$2,30 \cdot 10^{-5}$	—	—	—
Степень ассоциации					
<b>II</b>	2,70	2,06	1,80	2,35	0,73
<b>Na-I</b>	0,83	0,76	0,34	2,93	—
<b>Ca-II</b>	4,00	3,67	—	—	—
<b>Ca-I</b>	4,93	4,62	—	—	—

Таблица 2  
Термодинамические функции распределения полиуронидов при различных температурах и рН среды

Температура, К	<b>II</b>	<b>Na-I</b>	<b>Ca-II</b>	<b>Ca-I</b>
$\Delta S^\circ$ , кДж/(моль · К)				
280	$-29,3 \cdot 10^{-3}$	$-204 \cdot 10^{-3}$	$270 \cdot 10^{-3}$	$49 \cdot 10^{-3}$
294	$-13,6 \cdot 10^{-3}$	$-161 \cdot 10^{-3}$	$270 \cdot 10^{-3}$	$49 \cdot 10^{-3}$
310	$-10,3 \cdot 10^{-3}$	$-130 \cdot 10^{-3}$	—	—
$\Delta H^\circ$ , кДж/моль				
280	-22,7	-59,6	93,1	40,6
294	-14,9	-48,1	93,1	40,6
310	-8,5	-38,6	—	—
$T\Delta S$				
280	-8,2	-57,1	75,6	13,7
294	-4,0	-47,4	79,4	14,4
310	-3,2	-40,2	—	—
$\Delta G^\circ$ (по уравнению Гиббса-Гельмгольца), кДж/моль				
280	-14,5	-2,5	17,5	26,9
294	-10,9	-0,7	13,7	26,2
310	-5,3	1,6	—	—
$\Delta G^\circ$ (по $K_{\text{расп.}}$ ), кДж/моль				
280	-14,4	-2,6	17,4	26,8
294	-10,8	-0,7	13,6	26,1
310	-5,4	1,7	—	—
310, рН ≈ 2,0	-11,3	0,8	—	—
310, рН ≈ 7,8	-3,1	—	—	—

полиуронидных молекул должно способствовать как увеличение числа катионов кальция, так и вытеснение катионов металлов ионами водорода. Эти выводы подтверждаются тем, что если **Na-I** растворим в воде, **II** умеренно растворим, то **Ca-I** и **Ca-II** мало растворимы. Для **Ca-I** и **Ca-II** при различных температурах показатель степени ассоциации превышает 1, что доказывает образование ассоциатов.

В кислой среде при смещении равновесия в сторону образования неионизированных молекул усиливается распределение обоих полиуронидов в органический слой. При этом для **II** переход в неполярную фазу наблюдается в большей степени (в 12,4 раза), чем для **Na-I**. В слабощелочной среде в результате повышения степени ионизации **II** его распределение в слой октанола-1 уменьшается, а для **Na-I** этот переход не наблюдается.

Расчитанные значения термодинамических функций процесса распределения полиуронидов (табл. 2) свидетельствуют о том, что переходу **Na-I** и **II** в органический слой благоприятствует изменение энтальпии ( $\Delta H^\circ < 0$ ), но не способствует изменение энтропийного фактора ( $T\Delta S < 0$ ). Вклад энтальпийной составляющей больше, чем энтропийного фактора в изменение изобарно-изотермического потенциала процесса распределения **II** ( $\Delta G^\circ < 0$ ), а для **Na-I** вклад энтальпийной составляющей меньше, чем энтропийного фактора ( $0 < \Delta G^\circ < 40$  кДж/моль). Поэтому для **II** возможен самопроизвольный процесс перехода из полярной фазы в неполярный слой, а для **Na-I** этот переход может осуществиться при наличии каких-либо активаторов процесса.

Распределению **Ca-I** и **Ca-II** не благоприятствует изменение энтальпии ( $\Delta H^\circ > 0$ ), но способствует изме-

нение энтропийного фактора ( $T\Delta S > 0$ ); при этом вклад энтальпийной составляющей больше, чем энтропийного фактора в изменение изобарно-изотермического потенциала ( $0 < \Delta G^\circ < 40$  кДж/моль) процесса распределения. Для **Ca-I** и **Ca-II** переход в неполярный слой может осуществиться при наличии каких-либо активаторов процесса. Найденные величины свидетельствуют о сольватации **Na-I** и **II** ( $\Delta H^\circ < 0$ ) и о разрушении ассоциатов **Ca-I** и **Ca-II** ( $\Delta H^\circ > 0$ ) в органическом слое.

Полученные результаты позволяют сделать следующий прогноз: молекулы **II**, **Ca-I** и **Ca-II** склонны к распределению и накоплению в гидрофобных биологических субстратах (печень, кожные покровы), молекулы **Na-I** – в гидрофильных биологических субстратах (костная ткань, мышечная ткань, почки, моча).

## ЛИТЕРАТУРА

1. Н. Ш. Кайшева, *Научные основы применения полиуронидов в фармации*, ПГФА, Пятигорск (2003), сс. 31 – 54, 62 – 73.
2. А. Альберт, *Избирательная токсичность. Физико-химические основы терапии*, Медицина, Москва (1989), сс. 215 – 227, 268 – 271, 280 – 291.
3. *Государственная фармакопея СССР*, Медицина, Москва, **11**(1), 120 – 122, 186 (1987).
4. G. Burgot and J.-L. Burgot, *Termochim. Acta*, **81**, 147 – 156 (1984).
5. Y.-L. Da, K. Ito, H. Fujiwara, *J. Med. Chem.*, **35**, 3382 – 3387 (1992).
6. Г. В. Лазурьевский, И. В. Терентьева, А. А. Шамшуриной, *Практические работы по химии природных соединений*, Высшая школа, Москва (1966), сс. 84 – 86.
7. А. с. СССР 1432064 (1985); *Бюл. изобрет.*, № 7 (1988).

Поступила 18.06.13

## STUDYING INTERPHASE DISTRIBUTION OF POLYURONIDES IN A SYSTEM OF TWO NON-MIXING SOLVENTS

N. Sh. Kaisheva and A. Sh. Kaishev

Pyatigorsk State Medico-Pharmaceutical Institute, Division of Volgograd State Medical University, Pyatigorsk, 357532 Russia

Distribution coefficients of polyuronides and their salts (pectin, sodium alginate, calcium pectinate, calcium alginate) in the water/1-octanol system have been determined depending on the temperature and the reaction of environment. Changes in the thermodynamic functions (enthalpy, entropy, Gibbs free energy) accompanying interphase distribution of polyuronides are established for estimating the probability of the spontaneous process of interphase distribution. The obtained results allow the pharmacokinetic properties of polyuronides during distribution in biological substrates to be predicted.

**Keywords:** polyuronides; distribution in biological substrates