

ИССЛЕДОВАНИЕ СТЕХИОМЕТРИИ КОМПЛЕКСА КАРНОЗИН-Cu [II] И ЕГО ИСПОЛЬЗОВАНИЕ В КОЛИЧЕСТВЕННОМ ОПРЕДЕЛЕНИИ КАРНОЗИНА

Д.А. Фадеева
М.А. Халикова
О.О. Новиков
Д.И. Писарев
Л.М. Даниленко
М.Ю. Чайкина

*Белгородский государственный
университет*

e-mail: novikov@bsu.edu.ru

В статье приведены результаты изучения стехиометрического показателя комплекса меди (II) и карнозина с использованием спектрофотометрического титрования по методу Йоу-Джонса. Установлено, что один моль ионов меди (II) связывает в комплекс три моль молекул карнозина. На основании полученных данных была разработана методика количественного определения карнозина методом косвенной йодометрии.

Ключевые слова: комплекс, карнозин, количественное определение.

Поиск новых действующих веществ для лекарственных препаратов в последние годы направлен в сторону природных биологически активных веществ ввиду их низкой токсичности и минимума побочных эффектов. Одним из таких соединений является дипептид карнозин [5]. Данное соединение обладает широким спектром биологической активности и является перспективным фармацевтическим агентом [1, 2].

Изучению химических свойств карнозина посвящено немало исследований, однако вопросам анализа данного соединения в лекарственных формах уделялось недостаточно внимания, следовательно, существует необходимость в разработке методик анализа карнозина с целью их использования в формировании нормативной документации на создаваемые лекарственные препараты.

Известно, что взаимодействие карнозина с солями меди (II) позволяет использовать метод косвенной йодометрии для количественного определения данного пептида [3].

Целью работы было установление стехиометрического показателя данного комплекса, а также разработка методики количественного определения карнозина методом косвенной йодометрии.

Методики исследования. Для определения стехиометрической закономерности карнозина с ионом Cu^{2+} использовали спектрофотометрическое титрование по методу Йоу-Джонса [4], заключающееся в последовательном измерении оптической плотности серии растворов с постоянным содержанием карнозина и различным содержанием ионов меди (II). После этого строили график зависимости величины оптической плотности от отношения числа молей лиганда к числу молей иона металла. Точку эквивалентности определяли в месте перегиба кривой.

В качестве раствора лиганда использовали 0,1 моль/л раствор карнозина, который готовили следующим образом: точную навеску вещества (22,6 г) переносили количественно в колбу мерную вместимостью 1000 мл, добавляли 100 мл воды очищенной, перемешивали до полного растворения субстанции и доводили объем в колбе до метки тем же растворителем.

Для проведения реакции комплексообразования готовили ряд растворов меди сульфата: навеску кристаллогидрата переносили в мерную колбу, растворяли в воде очищенной и доводили водой до метки (табл. 1).

Таблица 1

Приготовление растворов меди сульфата (II)

№ п/п	Концентрация раствора меди (II) сульфата, моль/л	Навеска кристаллогидрата соли ($\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$), г	Объем колбы мерной, мл
1	2	3	4
1	0,005	0,25	50
2	0,01	0,25	100

1	2	3	4
3	0,015	0,75	50
4	0,02	0,5	100
5	0,03	0,75	100
6	0,04	1,0	100
7	0,05	1,25	100
8	0,08	2,0	100
9	0,1	2,5	100
10	0,15	3,75	100

Для определения карнозина методом косвенной йодометрии точную навеску карнозина (около 0,3 г) растворяли в 10 мл воды в конической колбе вместимостью 100 мл с притертой пробкой, добавляли 3 мл 10%-ного водного раствора меди (II) сульфата и 2 мл 10%-ного раствора калия йодида. Реакционную смесь оставляли на 20 минут в темном месте, после чего фильтровали для отделения осадка меди (I) йодида. Фильтрат оттитровывали 0,1 М раствором натрия тиосульфата в присутствии индикатора – крахмала. Параллельно проводили холостой опыт. Расчет содержания карнозина в субстанции проводили по формуле:

$$C = \frac{(V - V') \cdot T}{a}, \quad (1)$$

где V – объем раствора натрия тиосульфата, пошедший на титрование холостого опыта, мл; V' – объем раствора натрия тиосульфата, пошедший на титрование избытка иона меди, мл; T – титр карнозина по определяемому веществу, г/мл; a – навеска карнозина, г.

Титр (г/мл) карнозина по меди сульфату рассчитывали следующим образом

$$T = \frac{3 \cdot 226,2 \cdot f \cdot C}{1000}, \quad (2)$$

где f – фактор эквивалентности карнозина; C – концентрация натрия тиосульфата, моль/л; 226,2 – молярная масса карнозина, г/моль; 3 – коэффициент пересчета (при взаимодействии карнозина с ионом Cu^{2+} на один моль карнозина приходится 1/3 моль меди (фактор эквивалентности равен 1), однако для стехиометричности расчетов необходимы целые значения количества вещества, поэтому при расчетах фактор эквивалентности необходимо умножить на 3).

Приготовление раствора меди сульфата 10%-ного: в мерную колбу вместимостью 250 мл помещали навеску около 39,06 г кристаллогидрата меди сульфата (II) и растворяли в воде очищенной.

Приготовление 10% калия йодида: в мерную колбу вместимостью 250 мл помещали навеску калия йодида (25 г) и растворяли в воде очищенной, после чего доводили объем в колбе до метки.

Результаты и их обсуждение.

В результате исследований получена кривая спектрофотометрического титрования (рисунок) и установлено, что один моль ионов меди (II) связывает в комплекс три моль молекул карнозина.

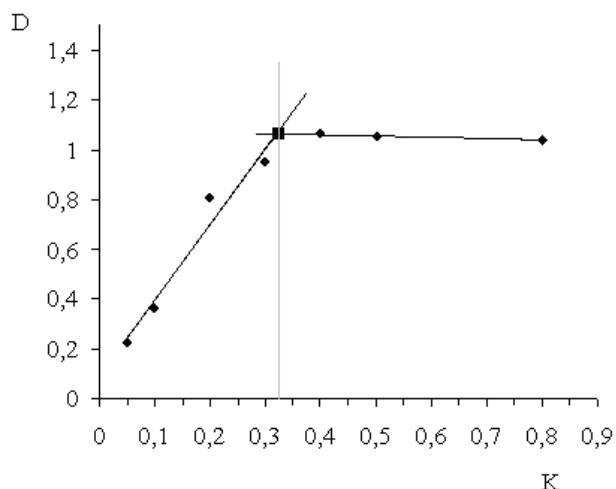
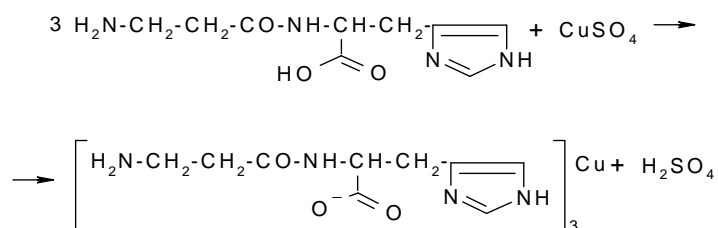
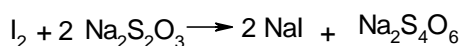
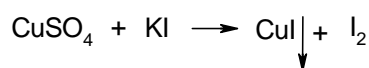


Рис. Кривая спектрофотометрического титрования 0,1 М раствора карнозина раствором меди (II) сульфата (К – отношение числа моль карнозина к числу моль ионов меди)

Эти данные использованы для расчета количественного содержания карнозина в растворе методом косвенной йодометрии, уравнения реакций которого приведены ниже [3]. На первой стадии карнозин связывается реакцией комплексообразования с ионом меди:



После этого избыток меди сульфата оттитровывали йодометрически:



Результаты йодометрического титрования раствора субстанции карнозина приведены в табл. 2.

Таблица 2

Результаты количественного определения карнозина в субстанции методом косвенной йодометрии

№ п/п	Масса навески карнозина, г	Содержание карнозина в субстанции (С), %	S	$\overline{\Delta N}$	$\varepsilon, \%$
1	0,3020	95,31	0,66	1,71	1,79
2	0,3014	94,69			
3	0,2996	95,32			
4	0,2996	95,32			
5	0,3014	95,78			
6	0,3005	96,67			
		$\overline{N} = 95,52$			

Как следует из табл. 2, содержание карнозина в субстанции, установленное методом косвенной йодометрии, составило $95,52 \pm 1,71 \%$. Ошибка определения составила 1,79%.

Таким образом, взаимодействие карнозина с солями меди (II) позволяет использовать метод косвенной йодометрии для количественного определения данного пептида. Разработанный метод можно рекомендовать для количественного определения карнозина в лекарственных препаратах и в нативном виде.

Работа выполнена в рамках федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009–2013 годы, государственный контракт № 14.740.11.0119 от 08 сентября 2010 года, проект «Комплексные фармакологические и технологические исследования ряда субмикроструктурированных (наноструктурированных) фармацевтических субстанций с доказанными измененными физико-химическими свойствами».

Литература

1. Болдырев, А.А. Карнозин:эндогенный физиологический корректор активности антиоксидантной системы организма / А.А. Болдырев, С.Л. Стволинский, Т.Н. Федорова // Усп. физиол. наук. – 2007. – Т. 38(3). – С. 57-71.
2. Карнозин защищает эритроциты от окислительного стресса, вызываемого гомоцистеиновой кислотой / Е. С. Арзуманян [и др.] // Доклады академии наук . – 2008. – Т. 418, № 6. – С. 834-836.
3. Эшворт, М.Р.Ф. Титриметрические методы анализа органических соединений. Ч. II. Методы косвенного титрования: пер. с англ. / М.Р.Ф. Эшворт, под общей ред. проф. А.П. Крешкова. – М.: Химия, 1972. – 496 с.
4. Юинг, Г. Инструментальные методы анализа / Г. Юинг. – М.: Мир, 1989. – 608 с.
5. Carnosine and carnosine-related antioxidants: a review / A.Guiotto [et al.] // Curr Med Chem. – 2005. – Vol. 12(20). – P. 2293-315.

INVESTIGATION OF CARNOSINE- Cu (II) COMPLEX STEHIOMETRY AND IT'S APPLICATION IN QUANTITATIVE DETERMINATION OF CARNOSINE

D.A. Fadeeva
M.A. Khalikova
O.O. Novikov
D.I. Pisarev
L.M. Danilenko
M.Yu. Chaikina

The results of studying of stehiometry of the complex carnosine-Cu²⁺ are represented in the article. It was established by spectrophotometric titration, that 1 mole of copper ions fixes 3 moles of carnosine molecules. Based on these findings the method of carnosine's quantitative determination by indirect iodometry was developed.

Belgorod State University

Key words: complex, carnosine, quantification.

e-mail: novikov@bsu.edu.ru