АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
Институт экологии растений и животных

На правах рукописи

Светлана Семеновна ЛЕКОХМАХЕР

ПОВЕДЕНИЕ ХЕЛАТНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТАЛЛОВ В ЖИВОТНОМ ОРГАНИЗМЕ

03.00.01 – радиобиология

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

г.Свердловск, 1975

АКАДЕМИЯ НАУК СССР
УРАЛЬСКИЙ НАУЧНЫЙ ЦЕНТР
Институт экологии растений и животных

На правах рукописи

Светлана Семеновна ЛЕКОХМАХЕР

ПОВЕДЕНИЕ ХЕЛАТНЫХ СОЕДИНЕНИЙ МЕТАЛЛОВ В ЖИВОТНОМ ОРГАНИЗМЕ

03.00.01 – радиобиология

Автореферат диссертации
на соискание ученой степени
кандидата биологических наук

г.Свердловск, 1975

Работа выполнена в Институте экологии растений и животных Уральского научного центра АН СССР.

Научный руководитель:

кандидат биологических наук Д.И.СЕМЕНОВ

Официальные оппоненты:

доктор медицинских наук Л.А.БУЛДАКОВ

кандидат медицинских наук К.Н.КЛЯЧИНА

Ведущее учреждение - филиал № 4 Института биофизики Минздрав СССР.

Автореферат разослан "23" ноября 1975 г.

Защита диссертации состоится "23" декабря 1975 г. в "14" час. на заседании Ученого Совета Института экологии растений и животных Уральского научного центра АН СССР.

Отзывы в 2-х экземплярах просим направлять по адресу: 620008, г.Свердловск, Л-8, ул.8 Марта, 202 Институт экологии растений и животных УНЦ АН СССР.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института экологии растений и животных УНЦ АН СССР.

УЧЕНЫЙ СЕКРЕТАРЬ УЧЕНОГО СОВЕТА
Кандидат биологических наук

М.Г.НИФОНТОВА

За последние два десятилетия в биологии и медицине нашли широкое применение производные полиаминополикарбоновых кислот, которым швейцарский химик Г.Шварценбах дал название комплексоны.

Натриевые соли комплексонов хорошо растворимы в воде и обладают способностью связывать катионы поливалентных металлов в высокоустойчивые соединения. Прочность связи различна и определяется свойствами как металла, так и комплексующего аниона (лиганда).

Эти свойства комплексонов используются для изучения роли катионов в биохимических процессах, а также при различного рода нарушениях минерального обмена. Особое место занимают комплексоны в лечении отравлений токсическими металлами и радиоактивными изотопами.

Комплексоны не подвергаются в организме заметному расщеплению, не обладают аффинитетом к какой-либо ткани и легко фильтруются через почечный барьер, унося с собой связанные катионы (H. Foreman, 1960).

Организм представляет сложную даже с формальной физико-химической точки зрения среду, приходится учитывать многие специфические факторы, накладывающие существенный отпечаток на взаимоотношения катионов и комплексонов в биологической системе.

Клеточные мембраны, биологические барьеры неодинаково проницаемы, с одной стороны, для разных форм металлов, а с другой стороны, для естественно присутствующих в организме биолигандов и для вводимых нами синтетических комплексонов. На это накладывается еще фактор времени, так как скорость изменения концентраций инкорпорируемых веществ различна.

Кроме того, в жидкостях и тканях организма имеется целый набор катионов и биолигандов, что приводит к сложным взаимоотношениям между ними и инкорпорируемыми излучателями и комплек-

сонами. Мало того. Биологические поверхности способны сорбировать катионы металлов, но практически индиферентны к комплексонам. Наконец, разные физико-химические формы одного и того же химического элемента (свободные катионы, их гидроокиси различной полимерности, биокомплексы) не одинаково доступны для комплексона. Выделение и фиксация тканями отдельных форм металла протекает по разному. Кроме того, клеточные мембраны практически не проницаемы для известных до настоящего времени комплексонов, но проницаемы (в разной степени) для катионов металлов,что определяет неодинаковую не только физико-химическую, но и гистологическую доступность для комплексона как разных металлов, так и их разных физико-химических форм.

При такой сложности трудно учесть и четко вычленить отдельные факторы, влияющие на взаимоотношения между комплексонами и радиоизотопами металлов в организме. В этом отношении поведение инкорпорированных готовых комплексов менее подвержено влиянию перечисленных факторов, нежели при раздельной инкорпорации излучателя и комплексона.

Здесь в наиболее чистом виде будет проявляться конкуренция между инкорпорированным готовым комплексом, с одной стороны, эндогенными металлами, биокомплексонами и сорбирующими поверхностями, с другой. Рассмотрение этих взаимоотношений и являлось одной из задач настоящего исследования.

Комплексные соединения металлов широко используются в медицине, сельском хозяйстве, биологии, а потому существенно знать степень разрушения в организме применяемого препарата, причины распада, тропность к той или иной ткани высвободившегося из комплекса металла и то взаимное влияние, которое оказывают металл и лиганд на свою собственную судьбу в организме.

Задачами настоящего исследования были:

I. Определение величины распада в организме комплексных соединений металлов разной устойчивости.

2. Изучение распределения по тканям металлов, инкорпорированных в виде хелатных комплексов.

3. Выявление основных факторов, вызывающих расщепление хелатных соединений в условиях организма.

4. Выявление корреляции между величиной распада хелатов в организме и эффективностью соответствующих лигандов в выведении излучателей и токсических металлов.

При решении подобных вопросов определяющее значение имеет выбор дозы инкорпорируемого комплекса. Здесь ограничивающим фактором является, с одной стороны, токсическое действие высоких доз комплексов, а с другой стороны, наличие значительного количества примесей в растворах радиоактивных изотопов. Предварительные исследования показали, что оптимальная, с учетом указанных причин, доза комплексов составляет для внутривенного введения 10 μгМ на крысу. Для гарантии полного связывания металла, меченого его радиоактивным изотопом, был взят десяти - процентный избыток лиганда.

МАТЕРИАЛ И МЕТОДИКА

В основных опытах для изучения поведения комплексных соединений металлов в организме животных использовали в качестве лигандов: I) этилендиаминтетраацетат (ЭДТА), 2) диэтилентриаминпентаацетат (ДТПА), 3) I,2-диаминоциклогексантетраацетат (ДЦТА), 4) нитрилотриацетат (НТА), 5) диаминодиэтиловый эфир тетраацетата (ДДТЭ).

Центральными атомами в комплексах являлись двухвалентные Ca, Mn, Fe, Zn, Cd и трехвалентные Fe, Y, Ce (хлориды или нитраты), меченые их радиоактивными изотопами, поставляемыми В/О "Изотоп".

В дополнительных опытах исследовали:

а) Происходит ли и в какой мере в условиях организма вытеснение центрального металла хелата другим катионом. Для этого крысам инъецировали внутривенно радиоактивный цинк-65, а через 3 минуты также внутривенно немеченые хелаты иттрия и свинца с ЭДТА, ДТПА, ДЦТЭ, ДЦГТА и НТА или меди и никеля с ЭДТА, или же натриевые соли этих комплексонов; прослеживали величину выделения ^{65}Zn с мочой.

б) Происходит ли в крови и тканях и в какой мере конкуренция биолигандов и катионообменных поверхностей за центральный меченый металл инкорпорированного хелата, а также в каком виде выделяется этот металл через почки.

Для этого проводили гельфильтрацию образцов сыворотки и водорастворимой части гомогенатов печени и почек на сефадексе Г-75 и образцов мочи, собранной в течение первых 6 часов у катетеризованных крыс на сефадексе Г-15. Колонки предварительно калибровали раствором комплекса, меченого по лиганду (углеродом-14) или по центальному атому (радиоактивным изотопом соответствующего металла). На основании содержания радиоактивности в последовательных фракциях элюата определяли хелатную форму металла, долю перешедшую на белок и на сефадекс.

в) Действительно ли имеет место подмеченная в основных опытах корреляция между величиной распада весомых хелатов в организме и поздней эффективностью соответствующего комплексона. Для этого был испытан комплекс ^{89}Sr -нитрат; прослеживали величину его выделения.

Все хелаты готовили из расчета 10 μгМ металла на 11 μгМ комплексона в инъецируемом крысе объеме (0,4 мл).

Опыты проводили на крысах самцах линии "Вистар" шести-семи месячного возраста. Животных после внутривенной инъекции готовых хелатов помещали в обменные клетки, позволяющие раздельно собирать мочу и кал. Через сутки животных забивали. Содержание радиоактивности определяли в печени, почках, селезенке, скелете, мягких тканях тушки, моче и кале.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Об устойчивости комплексов в организме судили по величине выделения радиоактивной метки с мочой (гельфильтрация показала, что с мочой крыс выделяется только нераспавшаяся доля комплекса).

Задержавшийся в организме излучатель представляет распавшуюся долю комплекса. С учетом данных по метаболическому поведению комплексонов принимаем, что при отсутствии распада комплекса должно выделиться в течение суток 95% излучателя с мочой. Меньшие величины укажут на частичное разрушение комплекса. При полном распаде задержка излучателя в организме должна соответствовать задержке весомых количеств порядка 10 μгМ простой (некомплексной) соли данного металла.

Исследования показали, что комплексы разных металлов не одинаково устойчивы в организме. Так, хелаты кальция подвергаются практически полному разрушению. Об этом свидетельствует отсутствие различий в поведении комплексных форм и простой соли кальция (10 μгМ).

У комплексов других металлов, обладающих большей стойкостью, наблюдаются существенные различия.

Комплексы цинка. Выделение с мочой составляло: Zn-ДЦТА - 85,I; Zn-ДТПА - 82,4; Zn-ЭДТА - 73,3; Zn-ДДТЭ - 58,I и Zn-НТА - 2I%; выделение с калом практически одинаково. Цинк, задержавшийся в организме, откладывается преимущественно в "мягкие ткани" тушки.

Комплексы кадмия. Cd-ДЦТА, Cd-ДТПА, Cd-ЭДТА и Cd-ДДТЭ выделялись с мочой одинаково, более 70%. В общих чертах характер распределения задержавшейся в организме доли комплекса такой же, как у простой соли.

Комплекс Cd-НТА полностью распадался и вызывал гибель животных (I0 μгМ является летальной дозой для крыс).

Комплексы марганца. Выделение не только с мочой, но и с калом неодинаково и по мере уменьшения содержания в моче (Mn-ДЦТА - 84,I; Mn-ДТПА - 64,2; Mn-ЭДТА - 49,6; Mn-ДДТЭ - 48,7; Mn-НТА - 49%) растет содержание марганца-54 в кале (Mn-ДЦТА - 7,2; Mn-ДТПА - 20,6; Mn-ЭДТА - 29,8; Mn-ДДТЭ - 29,9; Mn-НТА - 66,6%). Но в связи с тем, что выделение самих комплексонов через желудочно-кишечный тракт незначительно (не более 5%), принимаем, что с калом выделяется марганец, освободившийся после распада комплекса.

Задержавшийся в организме излучатель распределяется по разным тканям пропорционально величине распада, с предпочтительным отложением в "мягких тканях" тушки.

Комплексы трехвалентного железа Fe-ДЦТА, Fe-ЭДТА, Fe-ДДТЭ и Fe-ДТПА выделялись с мочой на 64,5-87,7%; освободившееся из комплекса железо преимущественно откладывалось в мягких тканях тушки, а из комплекса с почти полным распадом (Fe-НТА) - в печени, как и у простой соли.

Комплексы двухвалентного железа имеют более широкий размах выделения с мочой-от I% (Fe-НТА) до 94% (Fe-ДЦТА), но у Fe-ЭДТА,

Fe-ДТПА, Fe-ДДТЭ оно одинаково (~ 70%). Распределение по тканям двухвалентного железа одинаково для всех комплексов.

Комплексы иттрия с ДТПА и ДЦТА характеризуют очень высокое выведение с мочой (94,9 и 90,5%), иттрий-ЭДТА и иттрий-ДДТЭ выделяются на 84,6-81,2%, а иттрий-НТА на 2,4%. Иттрий-91, освободившийся из устойчивых комплексов, откладывается в "мягких тканях", а из комплекса Y -НТА - преимущественно в печени - 53%, т.е. идентично распределению 10 μгМ хлорида иттрия.

Комплексы церия, также как и комплексы других металлов, характеризует разный уровень выведения с мочой (от 96,6% Ce -ДТПА до 1,1% Ce -НТА). Распределяется церий, высвободившийся из Ce -НТА, подобно простой соли, а из Ce -ДТПА, Ce -ДДТЭ, Ce -ДЦТА и Ce -ЭДТА предпочтительно в "мягкие ткани" тушки.

Таким образом, практически полностью разрушаются комплексы кальция со всеми испытанными комплексонами и комплексы металлов с нитрилотриуксусной кислотой, за исключением Zn -НТА. Не распадаются Y -ДТПА, Y -ДЦТА, Ce -ДТПА и Fe^{2+}-ДЦТА. У остальных комплексов наблюдается частичный распад.

Зависимость распада комплексных соединений от констант устойчивости

Такие понятия как термодинамические константы устойчивости ($K_{уст.}$), константы эффективности ($K_{эфф.}$), константы вытеснения одного металла другим из комплекса ($K_{выт.}$) корректно можно использовать лишь для чистых систем. При интерпретации же результатов, получаемых на сложной биологической системе, они могут быть использованы лишь в некотором приближении, формально.

Поскольку константы кислотных ионизаций разных комплексонов неодинаковы, а pH крови и межтканевой жидкости, среды в которой разыгрываются процессы диссоциации комплексов является

величиной постоянной, целесообразно провести сравнение не только с термодинамическими константами устойчивости, но с константами эффективности.

Величина распада инкорпорируемых комплексов в одних случаях лучше соответствует термодинамическим константам устойчивости (комплексы цинка, марганца, иттрия), в других - константам эффективности (комплексы кадмия, двух- и трехвалентного железа). Логарифмическая зависимость величины распада комплексов от термодинамических констант устойчивости дает практически совпадающие прямые для цинка и марганца (уравнение распада $Zn = 158,4 - 7,74x$ и $Mn = 163,1 - 8,47x$), а прямая для комплексов иттрия имеет заметно больший наклон ($Y = 240,5 - 12,54x$). Видно, что хорошо согласующиеся данные о величинах распада по всем трем прямым получаются при $K_{уст.} > 10^{16}$, тогда как в области меньших констант зависимость для комплексов иттрия дает более высокий процент распада.

Комплексы других металлов с $K_{уст.} > 10^{16}$ хорошо укладываются в общую зависимость (см.рис.1), за исключением Ce-ЭДТА, Ce-ДЦГТА и всех комплексов трехвалентного железа, распадающихся заметно сильнее. Но, для трехвалентного железа в организме имеется специфический носитель трансферрин, способный конкурировать с хелатами за железо.

У нас нет приемлемого объяснения тому факту, что комплексы церия при близких константах устойчивости распадаются по-разному. Ce-ЭДТА (10^{16}) на 84%, Ce-ДЦГТА ($10^{16,8}$) на 54%, а Ce-ДДТЭ ($10^{16,7}$) лишь на 24%. Поведение лигандов идентично. Если бы различия имелись, они сказались бы и на комплексах других металлов. Едва ли повинны в этом биолиганды и катионообменные структуры, так как они, конкурируют за металл сообразно с константами устойчивости, насколько можно судить по комплексам

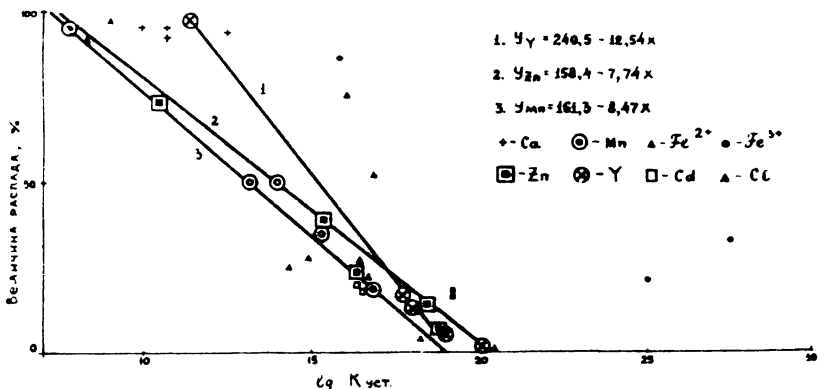

Рис. 1 Зависимость величины распада комплексных соединений НТА, ФОТЭ, ЭДТА, ФЦГТА и ДТПА с разными металлами от lg K уст.

других металлов. Даже хелаты железа, хотя и выпали из общей зависимости, в общем подчиняются константам устойчивости, но на своем обусловленном трансферрином уровне.

По-видимому, имеется особая специфика, присущая некоторым цериевым комплексам.

Менее стойкие комплексы Ce-НТА ($K_{уст.}$ 10^{9}) и Fe^{2+}-НТА ($K_{уст.}$ $10^{8,3}$) совпадают с "марганцево-цинковой зависимостью, а все комплексы кальция ($K_{уст.}$ 10^{10}-$10^{12,5}$) - с "иттриевой".

Отвлекаясь от отдельных деталей, можно принять, что в общих чертах зависимость имеется. Полностью распадаются в организме комплексы, термодинамические константы устойчивости которых не превышают $10^{12,5}$; практически не разрушаются комплексы с константами выше 10^{19}. Правда, имеются исключения, когда ряд комплексов или все комплексы определенного металла ведут себя обособленно. Это все указывает на определенную роль, именно металла, центрального атома комплекса, конкуренция за который биологических структур с комплексоном или, вытеснение которого эндогенными металлами ответственны за степень распада хелатных комплексов в организме.

<u>О скорости распада комплексов разной устойчивости</u>. Испытание весомых количеств хелатов позволяло в случае легко гидролизующихся металлов судить о скорости разрушения комплекса по характеру распределения в организме высвободившегося излучателя. Наиболее показательными в этом смысле являются хелаты иттрия, величина отложения которого в органах ретикуло-эндотелиальной системы, а также в скелете служит хорошим показателем инкорпорированной весовой дозы излучателя.

Кроме того, выделение хелатных комплексов, как и самого комплексона подчиняется экспоненциальному закону. Примем за

основу $T_{1/2}$ = 30 минут, определенное в нашей лаборатории (Е.Сухачева, 1974). Отсюда, можно рассчитать, что практически полный распад хелатов должен происходить в считанные минуты, иначе произойдет заметное выделение комплекса через почки. Такова картина в случае комплексов нитрилотриацетата и всех комплексов кальция. Практически мгновенное расщепление этих комплексов обусловливает характер распределения излучателей, сходный с установленным для простых солей (табл.I).

Однако присутствие НТА все-таки сказывается в некотором "экранировании", по-видимому от процессов гидролиза, металлов, обладающих основными свойствами.

Понятны тогда и данные гельфильтрации, указывающие на то, что распад этих комплексов происходит непосредственно в крови (табл.2).

Более медленный распад определяет характер поведения отщепившегося излучателя по типу "невесомых" количеств.

Роль тканей в расщеплении хелатных комплексов в организме.

Для выяснения этого вопроса комплексы ^{91}Y-ЭДТА и ^{91}Y-НТА, отличающиеся по устойчивости и по поведению высвободившегося из комплекса металла инъецировали крысам внутривенно (в дозе 10 μгМ) и через 5 минут методом гельфильтрации на сефадексе Г-75 определяли в печени, почках и сыворотке крови долю нераспавшегося хелата, излучателя, перешедшего в белковую фракцию и на сефадекс. Как показали результаты исследований (табл.II), через 5 минут в сыворотке крови остается лишь около 12% радиоактивного иттрия в основном в хелатной форме, лишь 1/60 доля иттрия переходит в белковую фракцию и на сефадекс. После инъекции ^{91}Y-НТА через 5 минут в крови задерживалось около 61% радиоактивного иттрия, причем основная его доля переходила в белковую фракцию. Эти данные являются свидетельством тому, что

Таблица I

Содержание иттрия-9I в тканях после внутривенного введения комплексов (^{91}Y-ЭДТА, ^{91}Y-НТА) и $^{91}YCl_3$ (невесомого, I и I0 μгм)

Ткани	$^{91}YCl_3$ невесомый	$^{91}YCl_3$ x) I μгм	$^{91}YCl_3$ x) I0 μгм.	^{91}Y-ЭДТА I0 μгм	^{91}Y-НТА I0 μгм
Печень	I0,2±0,58	62,4±I,68	69,4±I,63	0,4±0,02	53,0±3,9I
Почки	3,9±0,32	2,8±0,24	0,6±0,03	I,5±0,08	0,5±0,0I
Селезенка	0,2±0,0I	3,2±0,42	3,7±0,I5	0,06±0,0004	I6,8±3,53
Скелет	52,3±I,68	I4,7±0,65	8,5±0,39	3,0±0,23	I4,3±I,46
Мягкие ткани	I7,2±I,37	I3,3±I,32	I6,5±I,3I	8,2±0,23	II,9±0,94
Моча	I4,9±0,54	I,3±0,27	0,2±0,07	84,6±0,39	2,4±0,I6
Кал	I,I±0,I7	I,8±0,48	0,6±0,I3I	2,2±0,38	I,I±0,09

x) Данные по распределению I и I0 μгм $^{91}YCl_3$ взяты из работы (Д.И.Семенов с соавт.I975)

основной распад γ-НТА происходит в крови.

Таблица 2

Ткани	Белковая фракция	Хелатная форма	Связано сефадексом
Сыворотка крови:			
γ-ЭДТА	0,I	II,5	0,I
γ-НТА	50	2,3	8,5
Печень γ-ЭДТА	0,4	I,4	0,3
Почки γ-ЭДТА	I,3	9,3	0,2

Заметен распад γ-ЭДТА в печени - I/5 радиоактивности переходит в белковую фракцию и I/7 на сефадекс, и в почках - I/8 и I/55 доля соответственно. Эти данные могут служить достаточно убедительным основанием для утверждения, что именно в тканях происходит распад такого устойчивого комплекса как γ-ЭДТА.

Роль ионного обмена в распаде хелатов в организме.

В крови и межтканевой жидкости внутривенно инъецированный комплекс создает при равномерном распределении начальную кон - центрацию в 200 микромолей. Это на порядок величины выше концентрации таких эндогенных металлов как железо (I8 μM), медь (I6 μM), цинк (I5 μM), но на порядок величины ниже общей концентрации кальция, т.е. свободного Ca^{2+} и белковосвязанного. Практически все плазменное железо и медь исключительно прочно связаны специфическими носителями, и потому не могут быть потенциальными конкурентами закомплексованному излучателю, также как и магний, из-за низкой константы комплексообразования. Таким образом, конкурентами излучателю могут являться лишь цинк и кальций, концентрация которого в крови в 250 раз выше чем цинка, но, правда, он обладает на 5 порядков величин меньшей константой

устойчивости комплексов. Поэтому с целью проверки возможного участия эндогенных металлов в разрушении хелатных комплексов в организме мы провели специальные исследования, в которых крысам внутривенно инъецировали 3 мгМ хлористого цинка, меченого цинком-65, а через три минуты II мгМ одного из комплексонов (ЭДТА, ДТПА, ДДТЭ, ДЦГТА и НТА) или его соединения с иттрием, свинцом, никелем и медью.

Это давало возможность: а) выявить степень снижения эффективности (в отношении цинка-65) за счет блокировки комплексонов указанными металлами; б) сопоставляя полученные данные с величинами распада хелатов в организме, составить представление о механизмах разрушения хелатных комплексов в организме.

Участие цинка в разрушении инкорпорируемых хелатов оценивали не просто по количеству выведенного через почки цинка-65, а с учетом способности каждого из комплексонов связывать и выводить цинк.

Как показали результаты исследований, одинаковой была эффективность Na_2НТА и комплексов Y-НТА и Pb-НТА (10%), Na_2ДДТЭ и Pb-ДДТЭ (40%), Na_2-ЭДТА и Cu-ЭДТА (53,3 и 54%), т.е. они выводили все доступное для этих комплексонов количество цинка. Вдвое меньше цинка по сравнению с простой солью (80%) выводит Pb-ДТПА (40%). В 3-3,5 раза менее выражена эффективность по сравнению с ЭДТА (45%) ее хелатов с иттрием, свинцом и никелем (12,5-16,8%). В 5 раз менее эффективен, чем ДДТЭ, его комплекс со свинцом (43 и 9,3% соотв.). Хелаты Y-ДЦГТА, Pb-ДЦГТА и Y-ДТПА почти не увеличивают выведения цинка-65 (0,9-2,7% по сравнению с 20% Na_2ДЦГТА и 1,6% по сравнению с 64,7 у Na_3ДТПА).

Четкого соответствия между величиной выведения цинка-65

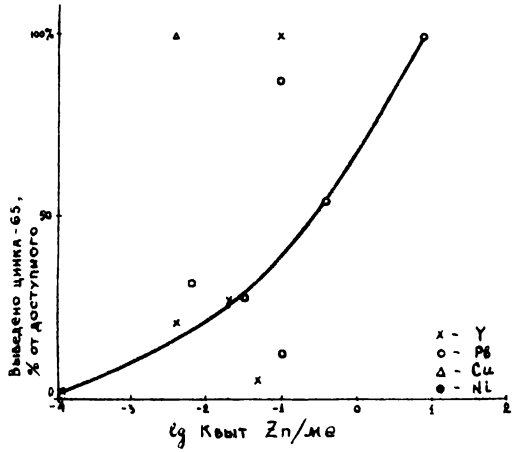

Рис.2 Зависимость величины выведения цинка-65 с мочой хелатами разных металлов (НТА, ЭДТА, ДДТЭ, ДЦГТА и ДТПА с иттрием и свинцом и ЭДТА с медью и никелем) от констант вытеснения цинком этих металлов.

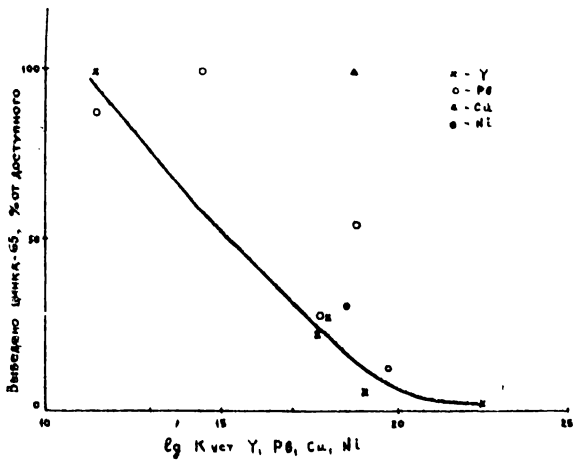

Рис.3 Зависимость величины выведения цинка-65 с мочой комплексами разных металлов, (НТА, ЭДТА, ДДТЭ, ДЦГТА и ДТПА с иттрием и свинцом, и ЭДТА с никелем и медью) от их констант устойчивости.

(% от доступного) и константами вытеснения цинка не наблюдается (рис.2): выпадают 5 из I2 точек.

Значительно лучше величина выведения цинка-65 (% от доступного) соответствует константам устойчивости самих хелатов, испытанных против цинка (рис.3): выпадают лишь три точки, из которых для двух имеются объяснения. Это значительный распад Cu-ЭДТА и Pb-ДТПА [Д.И.Семенов] в организме, не соответствующий высоким $K_{уст.}$.

Это достаточно серьезный аргумент в пользу того, что в данном случае происходит не вытеснение металлов из их хелатов цинком по реакции:

$$ML + Zn = ZnL + M ,$$

а скорее разрушение хелатов иным путем с высвобождением лиганда, который и комплексовал цинк:

$$ML + L_б + Zn = ML_б + L + Zn = ML_б + ZnL$$

где $L_б$ - биолиганд или катионообменник в организме, обладающие высоким аффинитетом к М.

В пользу этого свидетельствуют данные гельфильтрации гомогенатов печени и почек, которые показали, что за металл хелата конкурируют белки крови и тканей (табл.2).

Еще одним доказательством в пользу этого соображения является соответствие между величиной выводимого доступного для разных лигандов ^{65}Zn и величиной распада в организме хелатных соединений иттрия с этими лигандами (рис.4).

В заключение следует заметить, что опыты проведены с весомыми дозами хелатов, создававшими в жидкостях организма, как было уже отмечено, начальную концентрацию на порядок величин более высокую, чем тот же цинк, о котором здесь шла речь. И в опытах с меченым ^{65}Zn (доза 3 μM на крысу) и немечеными хелатами

(доза 10 μг/м) начальные концентрации инкорпорируемых веществ были также выше естественной концентрации эндогенного цинка.

Поэтому сделанные выводы касаются только весомых количеств хелатов. При других, меньших дозах, вполне возможно будет значительным вклад процесса ионного обмена с тем же цинком.

Взаимосвязь между эффективностью комплексонов и устойчивостью их хелатов в организме

В ходе экспериментов выяснилось следующее обстоятельство. Как известно, раннее применение НТА заметно снижает отложение в тканях радиоиттрия и радиоцерия. Более позднее применение оказалось совершенно не эффективным (Трегубенко И.П. и др.,1958). Таким образом испытание препаратов в ранние сроки не может характеризовать эффективность в более поздние. В наших экспериментах было установлено, что весомые комплексы НТА с различными металлами полностью разрушались в организме. Это хорошо соответствует отсутствию эффективности этого комплексона на поздних стадиях эксперимента. Другим примером может служить выраженная способность лимоннокислого натрия резко повышать выделение радиоактивного стронция в течение получаса после отравления, и отсутствие эффективности на более поздние сроки. Как мы и ожидали, весомый комплекс стронций-цитрат (10 μг/м) полностью разрушался в организме, причем выделение излучателя с мочой было вдвое ниже (4,6 против 8,6%), чем такой же дозы хлористого стронция.

Кроме того, как известно поздняя эффективность ДЦГТА заметно выше, чем можно было ожидать, исходя из данных по раннему его применению (И.П.Трегубенко и др.,1962), но она хорошо коррелировала с устойчивостью весомых комплексов.

Проведенное нами сопоставление выявило довольно хорошую зависимость между величиной выведения с мочой излучателей разными

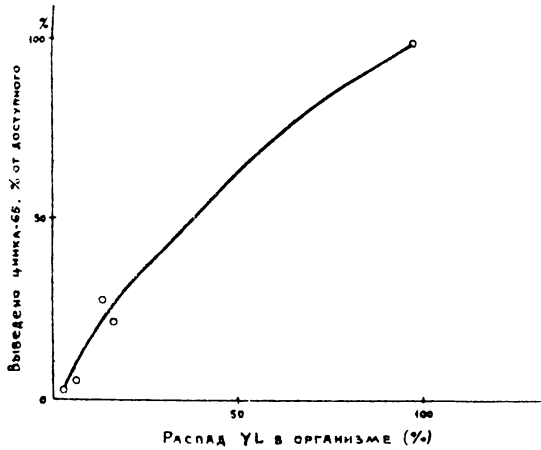

Рис 4 Соответствие величины выведения цинка-65 с мочой разными хелатами иттрия и степени распада этих хелатов в организме.

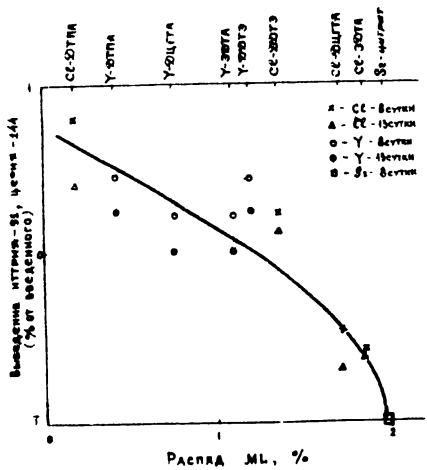

Рис. 5 Соответствие величины выведения ^{91}Y и ^{144}CC комплексонами на 8 и 15 сутки опыта величине распада их весомых хелатов с данными металлами.

комплексонами при позднем их применении (на 8 и 13 сутки опыта), и полученной в настоящих исследованиях величиной распада (рис.5).

Исходя из выше изложенного, нам кажется, что устойчивость весомых комплексов можно рассматривать как удобный экспресс-метод испытания новых комплексонов.

Такое испытание можно ограничить и более коротким, чем одни сутки сроком; вполне достаточно 4-6 часов, так как по нашим данным, если распад комплекса значителен, то он протекает быстро.

Выводы

В результате изучения поведения в организме весомых хелатов разных металлов, роли эндогенных катионов, биолигандов и ионообменных поверхностей в разрушении инкорпорированного хелата установлено:

1. Величина распада хелатов в организме подчиняется логарифмической зависимости от констант устойчивости. Устойчивы соединения с $K_{уст} > 10^{19}$, частично разрушаются с $K_{уст}$ 10^{19} - 10^{12} и полностью - с $K_{уст.} < 10^{12}$.

2. Характер поведения в организме гидролизующегося металла, высвободившегося из хелата, позволяет судить о скорости его разрушения. Установлен параллелизм между степенью и скоростью распада хелатов. Отмечено, что даже при быстром разрушении характер распределения излучателя несколько иной, нежели его простой соли; это обусловлено некоторым "экранированием" металла от процессов гидролиза.

3. Разрушение весомых количеств комплекса в основном обусловлено конкуренцией за его центральный атом биолигандов и катионообменников организма.

4. Величина распада весомых комплексов характеризует способность комплексонов мобилизовать излучатели и токсические металлы из тканей (поздняя эффективность), а потому может служить экспресс-методом испытания новых комплексонов.

С П И С О К

работ, опубликованных по теме диссертации

1. Лекохмахер С.С., Е.И.Сухачева, И.П.Трегубенко, В.С.Безель, Д.И.Семенов. Об устойчивости комплексных соединений металлов в животном организме. Материалы II Всесоюзного биохимического съезда, 1969, Ташкент.

2. Лекохмахер С.С. Устойчивость хелатных комплексов некоторых металлов в организме животного. Тезисы докладов II Уральской конференции "Синтез и применение детоксицирующих соединений", 1971, Свердловск.

3. Лекохмахер С.С., Е.И.Сухачева. Поведение хелатных комплексов иттрия, церия и кадмия в организме животных. Метаболизм радиоизотопов в животном организме, труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1974, вып.89, 72-76.

4. Лекохмахер С.С. Поведение хелатных комплексов цинка, кальция и марганца в организме животных. Метаболизм радиоизотопов в животном организме, труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1974, вып.89, 67-72.

5. Сухачева Е.И.,Лекохмахер С.С., Т.П.Архипова. Уровень распада комплекса γ-ЭДТА в организме в зависимости от вводимой дозы. Метаболизм радиоизотопов в животном организме, труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1974, вып.89, 43-48.

6. Лекохмахер С.С., Е.И.Сухачева. В какой форме выделяются с мочой инкорпорированные хелатные комплексы? Метаболизм радиоизотопов в животном организме, труды Ин-та экологии растений и животных УНЦ АН СССР, 1974, вып.89, 64-67.

7. Лекохмахер С.С.,Д.И.Семенов. Возможный метод отбора комплексонов для ускорения выведения радионуклидов из организма. I радиобиологическая конференция социалистических стран, ЧССР, сборник материалов, 1974.

Тираж 150 Заказ № 543
Свердловск, К-83, пр. Ленина, 51. Типолаборатория УрГУ