УДК 544.35 : 615.33

ИОННЫЕ РАВНОВЕСИЯ В ВОДНОМ РАСТВОРЕ ЦЕФТРИАКСОНА

Голубева М.В., Алексеев В.Г.

ФГБОУ ВПО «Тверской государственный университет», Тверь, e-mail: bioinorg@tversu.ru

Кислотно-основные равновесия в водном растворе антибиотика цефтриаксона исследованы методом pH-метрического титрования при 25 °C на фоне 0,1 моль/л KNO_3. Показано, что анион цефтриаксона Ctx^{2-} может присоединять в кислой среде до трех протонов. С использованием программы NewDALSFEKрассчитаны константы протонирования аниона цефтриаксона: $lgK_1 = 4.35 \pm 0,03$ (аминотиазольная группа), $lgK_2 = 3,19 \pm 0,06$ (окситриазиноновая группа), $lgK_3 = 2.34 \pm 0,13$ (карбоксилатная группа). Рассчитана диаграмма равновесных концентраций протонированных форм. Анион Ctx^{2-} преобладает в растворе при pH более 5, форма $HCtx^-$ – при pH от 3,5 до 4,5, формы H_2Ctxи H_3Ctx^+– при pH менее 3,5. Полуэмпирическим квантовохимическим методом PM6 с использованием программы MOPAC 2009 созданы модели изомерных протонированных форм цефтриаксона и рассчитаны их энтальпии образования. На основании значений энтальпий образования проведено отнесение найденных констант равновесий к процессу протонирования той или иной функциональной группы.

Ключевые слова: ионные равновесия, константы равновесий, цефтриаксон, компьютерное моделирование структуры молекул

IONIC EQUILIBRIA IN THE WATER SOLUTION OF THE CEFTRIAXONE

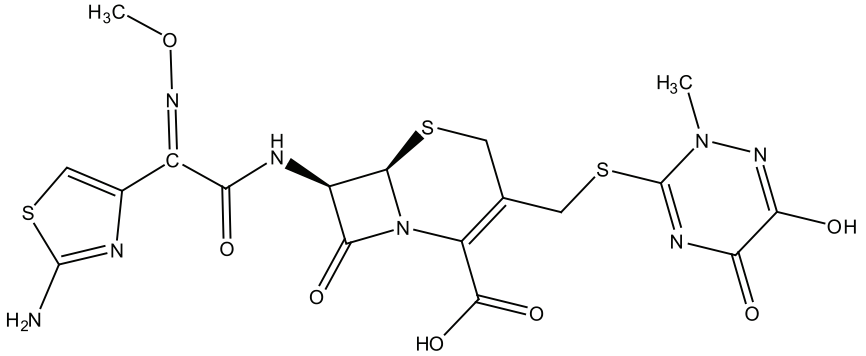
Golubeva M.V., Alekseev V.G.

Tver State University, Tver, Russia e-mail: bioinorg@tversu.ru

Acid-base equilibria in the water solution of the antibiotic ceftriaxone explored by method of pH-metric titration at 25 °C on background 0,1 mol/l KNO_3. It is shown that the anion of ceftriaxone Ctx^{2-} can accept three protrons. Using the program New DALSFEK constants of protonation of the anion of ceftriaxoneare calculated: $lgK_1 = 4,35 \pm 0,03$ (aminothiazole group), $lgK_2 = 3,19 \pm 0,06$ (oxytriazinone group), $lgK_3 = 2,34 \pm 0,13$ (carboxylate group). The diagram of equilibrum concentration of protonated formsis calculated. Anion Ctx^{2-} dominates in solution under pH more than 5, the form $HCtx^-$ – under pH from 3,5 before 4,5, the forms H_2Ctx and H_3Ctx^+ – under pH less 3.5. Models of isomeric protonated forms of ceftriaxone and their enthalpy of the formation are calculated by semiempiric quantumchemical method PM6 using the program MOPAC 2009. On the grounds of value of enthalpy of formation is organized referring the founded constants of equilibrium to one or another functional group.

Keywords: ionicequilibria, constants of equlibria, ceftriaxone, computer modeling of the structure of the molecules.

Цефтриаксон – высокоэффективный и широко используемый в современной медицине цефалоспориновый антибиотик третьего поколения [4]



Цефтриаксон (H_2Ctx) [3]

Молекула цефтриаксона содержит одну карбоксильную группу, однако при этом цефтриаксон ведет себя как двухосновная кислота и образует динатриевую соль Na_2Ctx. Именно в виде Na_2Ctx цефтриаксон используется в медицине. В литературе имеются сведения, что помимо карбоксильной группы кислотные свойства проявляет также гидроксильная группа гидрокситриазинонового цикла боковой цепи молекулы [3]. При этом аминотиазольная группа другой боковой цепи проявляет слабые основные свойства и способна к протонированию в кислой среде [14]. Литературные данные о константах кислотно-основных равновесий в растворах цефтриаксона немногочисленны и неоднозначны [1, 6, 8].

Цель данной работы заключалась в том, чтобы уточнить константы протонирования аниона цефтриаксона в кислой среде и сделать обоснованные выводы о соответствии полученных значений равновесиям протонирования тех или иных функциональных групп.

Экспериментальная часть

Для проведения экспериментов использовали динатриевую соль цефтриаксона Na_2Ctx(ОАО «Биосинтез», Пенза). Раствор KNO_3 1 моль/л готовили из навески соли квалификации «х.ч.», раствор HNO_3 0,1 моль/л – из фиксанала. Для приготовления всех растворов использовали бидистиллированную воду, из которой предварительно кипячением был удален CO_2. Исследование кислотно-основных равновесий было проведено pH-метрическим методом. Для измерения pH применяли иономер И-160 (Белоруссия, Гомельский завод измерительных приборов) со стеклянным измерительным электродом и насыщенным каломельным электродом сравнения. Систему калибровали по буферным растворам $Na_2B_4O_7$ (pH = 9,18 при 25 °C) и $KH_3(C_2O_4)_2$ (pH = 1,68 при 25 °C). Точность измерения pH ± 0,02. Растворы для титрования готовили непосредственно перед экспериментом. В мерную колбу на 500 мл вносили 1,0 г Na_2Ctx и 50 мл 1 моль/л раствора KNO_3 растворяли цефтриаксон и доводили до метки водой. 100 мл полученного таким образом раствора помещали в термостатируемую ячейку при 25,0 ± 0,1 °C и титровали раствором HNO_3. Поскольку в соответствии с литературными данными предполагалась возможность присоединения к аниону Ctx^{2-} как минимум трех протонов, титрование вели до 5 моль кислоты в расчете на 1 моль цефтриаксона.

Математическая обработка pH-метрической кривой,усредненной из трех экспериментальных, была проведена с помощью специализированной программы расчета химических равновесий NewDALSFEK (KCMSoft, 2000), основанной на алгоритме известной программы DALSFEK [5]. Программа NewDALSFEK и ее описание размещены в интернете на сайте http://sinisha.chat.ru. Работа потенциометрической установки и методика расчета констант ранее были проверены на рекомендованной модельной системе $Ni(NO_3)_2$–глицин [8]. Результаты проведенного нами ранее исследования системы $Ni(NO_3)_2$–глицин представлены в работе [9].

Для выполнения компьютерного моделирования структуры молекулы и ионов цефтриаксона использовали пакет Chem Office Ultra версии 12 (Cambridge Soft, 2010) [11] с подключенной программой MOPAC 2009 (Stewart J.J.P., Stewart Computational Chemistry, Colorado Springs, CO, USA) [10]. Работа программ была реализована на персональном компьютере под управлением Windows Vista SP2 Ultimate. В программе Chem Draw создавали структурную формулу молекулы или иона цефтриаксона с учетом стереоспецифичности строения и через буфер обмена Windows копировали в рабочее поле программы Chem3D. Затем запускали процедуру отыскания конформации с минимальной энергией методом молекулярной механики с использованием силового поля MMFF94, ориентированного на расчет параметров биомолекул [9]. Для этого запускали команды Calculations → MMFF94 → PerformMMFF94 Minimization. Тем самым проводили предварительную оптимизацию системы с целью избегания локальных энергетических минимумов. Далее проводили оптимизацию геометрии частицы и расчет энтальпии ее образования полуэмпирическим квантовохимическим методом PM6 [13]. Запускали команды Calculations → Mopac Interface → Minimize припараметрах: Job Type – Minimize (Energy/Geometry), Method – PM6, Wave Function – Closed Shell, Optimizer – EF, Solvent – Cosmo, Move with all Atom.

Результаты исследования и их обсуждение

Были проанализированы различные модели равновесий, включающие самоионизацию воды (1) и протонирование аниона Ctx^{2-} (2)–(5):

$$H^+ + OH^- \leftrightarrows H_2O \quad (1)$$

$$H^+ + Ctx^{2-} \leftrightarrows HCtx^- \quad (2)$$

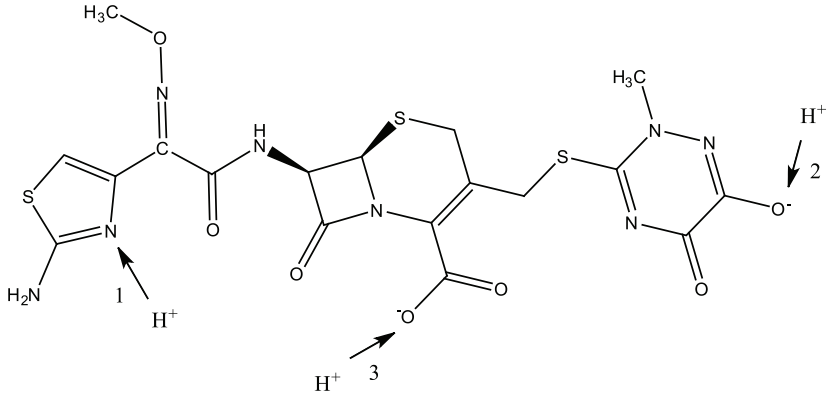
$$2\,H^+ + Ctx^{2-} \leftrightarrows H_2Ctx \quad (3)$$

$$3\,H^+ + Ctx^{2-} \leftrightarrows H_3Ctx^+ \quad (4)$$

$$4\,H^+ + Ctx^{2-} \leftrightarrows H_4Ctx^{2+} \quad (5)$$

С учетом ионной силы 0,1 (KNO_3) pK_w = 13,78 при 25 °C [12]. Наилучшее соответствие теоретической кривой титрования экспериментальным данным (рис. 1) обеспечивает модель, включающую образование форм $HCtx^-$, H_2Ctx и H_3Ctx^+. Форму H_4Ctx^{2+} программа оценивает как незначимую и исключает из расчета. Распределение форм цефтриаксона в зависимости от pH раствора представлено на рис. 2.

Получены следующие значения ступенчатых констант протонирования аниона Ctx^{2-}: $lgK_1 = 4{,}35 \pm 0{,}03$, $lgK_2 = 3{,}19 \pm 0{,}06$, $lgK_3 = 2{,}34 \pm 0{,}13$. При этом можно предполагать, что K_1 соответствует протонированию тиазольного цикла (1), K_2 – окситриазиноновой группы (2), K_3 – карбоксилатной группы (3).



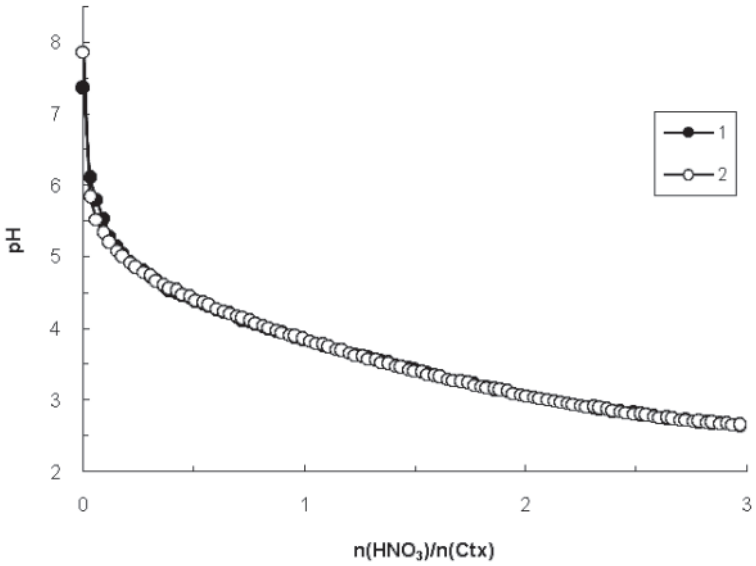


Рис. 1. Экспериментальная (1) и теоретическая (2) кривые титрования 0,00334 моль/л раствора Na_2Ctx 0,1 моль/л раствором HNO_3 на фоне 0,1 моль/л KNO_3 при 25 °С

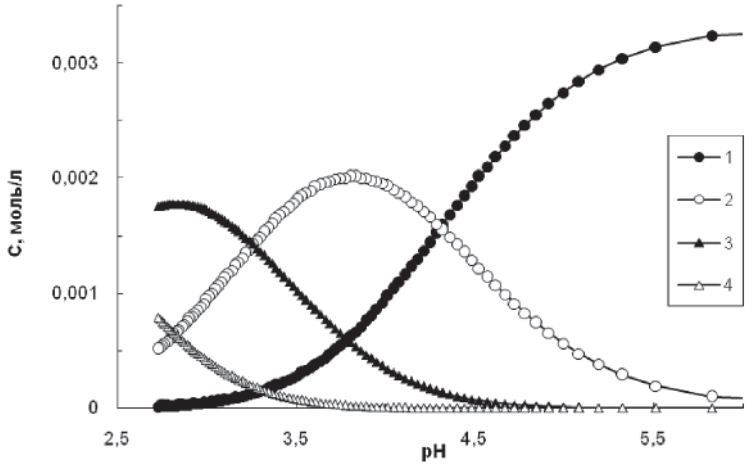


Рис. 2. Распределение равновесных концентраций форм цефтриаксона в зависимости от pH на фоне 0,1 моль/л KNO_3 при 25 °С. 1 – Ctx^{2-}, 2 – $HCtx^-$, 3 – H_2Ctx, 4 – H_3Ctx^+

Эти выводы базируются на результатах компьютерного моделирования молекулы и ионов цефтриаксона. Моделирование молекулы H_2Ctx методом молекулярной механики показывает, что неподеленную электронную пару, а следовательно, и возможность координации протона или катиона металла имеет атом азота тиазольного цикла, а не присоединенной к нему енаминной группы. Далее полуэмпирическим квантовохимическим методом PM6 был проведен расчет энергетически выгодных конформаций и соответствующих значений энтальпий образования ΔH_f изомерных по позиции протонирования форм $HCtx^-$ и H_2Ctx. Результаты представлены в таблице. В соответствие с минимальными значениями ΔH_f можно сделать вывод, что для формы $HCtx^-$ энергетически более выгоден изомер, протонированный по аминотиазольной группе, а для формы H_2Ctx – изомер, протонированный по аминотиазольной и окситриазиноновой группе.

Вычисленные методом PM6 значения энтальпии образования различных форм цефтриаксона

Форма	Позиции протонирования	$-\Delta H_f$, кДж/моль
$HCtx^-$	1	643.79
	2	591.16
	3	638.85
H_2Ctx	1, 2	452.92
	1, 3	420,62

Список литературы

1. Алексеев В.Г. Кислотно-основные равновесия в растворах цефотаксима и цефтриаксона / В.Г. Алексеев, Н.В. Воробьев, Ю.Я. Якубович // Журнал физической химии. – 2006. – Т. 80, № 9. – С. 1615–1619.

2. Алексеев В.Г. Комплексообразование в системах никель(II)–глицин–β-лактамные антибиотики / В.Г. Алексеев, И.С. Самуйлова // Коорд. химия. – 2007. – Т. 33, № 12. – С. 930–933.

3.Солдатенков А.Т., Колядина Н.М., Шендрик И.В. Основы органической химии лекарственных веществ. – М.: Мир, 2003. – 192 с.

4.Страчунский Л.С., Козлов С.Н. Современная антимикробная химиотерапия. – М.: Боргес, 2002. – 432 с.

5. Alcock R.M. A Damped Non-linear Least-squares Computer Program (DALSFEK) for the Evaluation of Equilibrium Constants from Spectrophotometric and Potentiometric Data / R.M. Alcock, F.R. Hartley, D. Rogers // J. Chem. Soc., Dalton Trans. – 1978. – № 2. – P. 115–123.

6. Alekscić M. Acidity constants of cefetamet, cefotaxime and ceftriaxone; the effect of the substituent at C3 position / M. Alekscić, V. Savić, G. Popović, N. Burić, V. Kapetanović // J. Pharm. Biomed. Analysis. – 2005. – Vol.39, № 3-4. – P. 752–756.

7. Braibanti A. Recommended procedure for testing the potentiometric apparatus and technique for the pH-metric measurement of metal-complex equilibrium constants / A. Braibanti, G. Ostacoli, P. Paoletlti, L.D. Pettit, and S. Sammartano // Pure Appl. Chem. – 1987. – Vol.59, № 12. – P. 1721–1728.

8. El-Shaboury S.R. Analysis of cephalosporin antibiotics / S.R. El-Shaboury, G.A. Saleh, F.A. Mohamed, A.H. Rageh // J. Pharm. Biomed. Analysis. – 2007. – Vol. 45, № 1. – P.1–19.

9. Halgren T.A. Merck Molecular Force Field. I. Basis,Form, Scope, Parameterization, and Performance of MMFF94 // J. Comput. Chem. – 1996. – Vol. 17, № 5–6. – P. 490–519.

10. http://openmopac.net/MOPAC2009.html (Дата обращения 18.03.2012).

11. http://www.cambridgesoft.com/software/chemoffice/ (Дата обращения 18.03.2012).

12. Jameson R.F. Apparent Molar Ionic Products of Water in Aqueous Potassium Nitrate Solutions and Calibration of the Glass Electrode as a Wide-range Proton Concentration Probe / R.F. Jameson, M.F. Wilson // J. Chem. Soc., Dalton Trans. – 1972. – P. 2607–2610,

13. Stewart J.J.P. Optimization of parameters for semiempirical methods V:Modification of NDDO approximations and application to 70 elements// J. Mol. Modeling. – 2007. – Vol.13. – P. 1173–1213.

14. Thiazole and its derivatives. Ed. by J. V. Metzger // J. Wiley&Sons. – 1979. – Part 2. – P.18–20,

References

1. Alekseev V.G. Acid-base equilibria in solutions of cephotaxime and cephtriaxone / V.G. Alekseev, N.V. Vorob'ev, Yu.Ya. Yakubovich // Russian Journal of Physical Chemistry A. – 2006. Vol. 80, no/ 9. pp. 1428–1432.

2. Alekseev V.G. Complex formation in nickel(II)-glycine-β-lactam antibiotic systems / V.G. Alekseev, I.S. Samuilova // Russian Journal of Coordination Chemistry. 2007. Vol. 33, no. 12. pp. 914–917.

3. Soldatenkov A.T., Koljadina N.M., Shendrik I.V. Osnovy organicheskoj himii lekarstvennyh vewestv [Bases to organic chemistry medicinal material]. Moscow: Mir, 2003. – 192 p.

4. Strachunskij L.S., Kozlov S.N. Sovremennaja antimikrobnaja himioterapija.[Modern antimicrobial chemotherapy] Moscow: Borges, 2002. 432 p.

5. Alcock R.M. A Damped Non-linear Least-squares Computer Program (DALSFEK) for the Evaluation of Equilibrium Constants from Spectrophotometric and Potentiometric Data / R.M. Alcock, F.R. Hartley, D. Rogers // J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1978. no. 2. pp. 115–123.

6. Alekscić M. Acidity constants of cefetamet, cefotaxime and ceftriaxone; the effect of the substituent at C3 position / M. Alekscić, V. Savić, G. Popović, N. Burić, V. Kapetanović // J. Pharm. Biomed. Analysis. 2005. Vol.39. no. 3–4. pp.752–756.

7. Braibanti A. Recommended procedure for testing the potentiometric apparatus and technique for the pH-metric measurement of metal-complex equilibrium constants / A. Braibanti, G. Ostacoli, P. Paoletlti, L.D. Pettit, and S. Sammartano // Pure Appl. Chem. 1987. Vol.59, no. 12. pp. 1721–1728.

8. El-Shaboury S.R. Analysis of cephalosporin antibiotics / S.R. El-Shaboury, G.A. Saleh, F.A. Mohamed, A.H. Rageh // J. Pharm. Biomed. Analysis. 2007.Vol. 45, no.1. P.1–19.

9. Halgren T.A. Merck Molecular Force Field. I. Basis, Form, Scope, Parameterization, and Performance of MMFF94 // J. Comput. Chem. 1996. Vol. 17, no. 5–6. P. 490–519.

10. http://openmopac.net/MOPAC2009.html (accessed 18 March 2012).

11. http://www.cambridgesoft.com/software/chemoffice/ (accessed 18 March 2012).

12/ Jameson R.F.Apparent Molar Ionic Products of Water in Aqueous Potassium Nitrate Solutions and Calibration of the Glass Electrode as a Wide-range Proton Concentration Probe / R.F. Jameson, M.F. Wilson // J. Chem. Soc., Dalton Trans. 1972. pp. 2607–2610,

13. Stewart J.J.P. Optimization of parameters for semiempirical methods V:Modification of NDDO approximations and application to 70 elements// J. Mol. Modeling. 2007. Vol.13. pp. 1173–1213.

14. Thiazole and its derivatives. Ed. by J. V. Metzger. J. Wiley&Sons, 1979. Part 2. pp.18–20,

Рецензенты:

Козловский Е.В., д.х.н., профессор, и.о. зав. кафедрой неорганической и аналитической химии Ивановского государственного университета (Министерство образования и науки РФ), г. Иваново;

Луцик В.И., д.х.н., профессор, зав. кафедрой химии Тверского государственного технического университета (Министерство образования и науки РФ), г. Тверь.

Работа поступила в редакцию 20.04.2012.