

ВЛИЯНИЕ ТИОЛОВ (НА ПРИМЕРЕ ГЛУТАТИОНА) НА МИГРАЦИЮ ИОНОВ МЕДИ (II) В ВОДНЫХ СИСТЕМАХ

Максим Чистяков*; Владислав Блонски; Виорика Гладкий

Молдавский государственный университет

Кишинев; Республика Молдова

**e-mail: maxim_cisteacov@mail.ru*

Введение

Экологическое состояние водных экосистем является актуальной темой многих исследований из-за ежегодно нарастающего антропогенного воздействия на окружающую среду. Одним из веществ, принимающих участие в детоксикации поступающих в воду загрязнителей, в частности тяжелых металлов, является глутатион (GSH). Благодаря тому, что в его молекуле присутствует сульфгидрильная группа (-SH) он входит в класс органических биогенных веществ, называемых тиолами, которые играют важную физиологическую роль в жизни живых организмов. Он присутствует в тканях всех живых организмов в больших концентрациях (780-3300 μM) [1].

При этом важно изучить экокхимические процессы, которые протекают и в отсутствие поллютантов. К примеру, некоторые гидробионты высвобождают тиолы в окружающую среду, или в качестве меры защиты от присутствующих различных токсинов, в том числе тяжелых металлов, или для того, чтобы снизить токсичность некоторых микроэлементов (Cu, Fe, Mn и др.) [2]. Одними из самых распространенных в природных водах являются соединения железа ($\approx 10^{-5}\text{M}$) и меди ($\approx 10^{-7}\text{M}$) [3].

Согласно проведенным исследованиям, концентрация тиолов в природных водах варьирует в пределах: 10^{-12} – 10^{-6}M [4]. В зависимости от pH среды глутатион способен формировать с тяжелыми металлами комплексные соединения с различной степенью растворимости. Некоторые из них являются нерастворимыми (меркаптиды) и способны осаждаться [5].

Таким образом, актуальность данной работы определяется способностью глутатиона образовывать с тяжелыми металлами в аэробной среде комплексные соединения, которые участвуют в процессе детоксикации гидробионтов.

Цель работы заключается в исследовании медьсодержащих комплексных соединений глутатиона в водной аэробной среде с различным молярным соотношением глутатиона и ионов меди (II) различными физико-химическими методами.

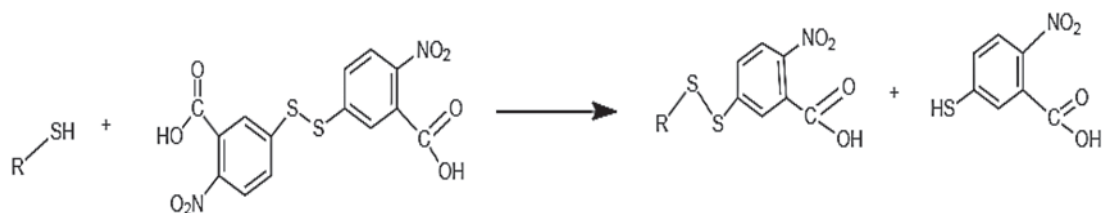
Материалы и методы

Для реализации исследований использовались следующие материалы – глутатион (GSH) и реактив Элмана, компании Aldrich Chemical Company, Inc CuSO_4 , фосфатный буферный раствор.

Для изучения процесса взаимодействия глутатиона с ионами меди Cu(II) в аэробной среде была смоделирована система GSH-Cu(II)- O_2 . Для выяснения кинетических закономерностей, в модельных системах была выбрана концентрация глутатиона 10^{-4} - 10^{-5}M , для того, чтобы скорость взаимодействия компонентов системы была быстрее, и чтобы значения определяемой оптической плотности соответствовали области прямой зависимости $A=f([-SH])$, согласно закону Бугера-Ламберта-Бера [6].

Используя кинетический подход, были исследованы закономерности взаимодействия глутатиона различной концентрации с ионами меди (II), содержание которых было постоянным и составляло $5 \cdot 10^{-6}\text{M}$. Для определения концентрации групп -SH, входящих в состав восстановленного глутатиона, был использован спектрофотометрический метод Элмана [7,8]. Он основан на взаимодействии 5,5-дитиобис-(2-нитробензойной кислоты) (реагент Элмана) с -SH группой, входящей в состав глутатиона при pH=8, в результате чего образуется 2-нитро-5-тиобензоат анион,

имеющий желтый цвет и обладающий максимумом поглощения при длине волны 412 нм. Данный процесс можно представить с помощью следующего уравнения реакции:

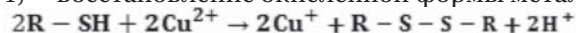


Также, для подтверждения данных о составе полученного соединения, полученных кинетическим методом, был использован метод молярных отношений [9]. Он основан на определении зависимости оптической плотности раствора смеси тиола и ионов меди от концентрации одного из компонентов (например, GSH, который играет роль лиганда), в то время как концентрация другого компонента (ионов меди) остается неизменной. Если представить графическую зависимость оптической плотности смеси от соотношения компонентов смеси при длине волны, соответствующей максимальному поглощению, то точка излома на кривой соответствует отношению стехиометрических коэффициентов компонентов, которое равно и отношению их концентраций. Для определения длины волны при которой данные комплексы имеют максимум поглощения был снят спектр поглощения в области UV-VIS. Максимум поглощения смеси находится при длине волны 296 нм.

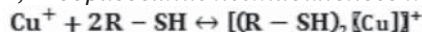
Результаты и их обсуждение

Исходя из полученных кинетическим методом результатов, было определено, что процесс взаимодействия глутатиона с ионами Cu(II) проходит в несколько стадий. Вначале концентрация свободных групп -SH падает, что говорит об образовании комплексного соединения, вероятнее всего в молярном соотношении [GSH]:[Cu(II)] = 2:1, согласно литературным данным [5], а через некоторое время их концентрация снова увеличивается, что может означать что из образовавшегося комплекса выделяется молекула глутатиона. Данный процесс можно представить с помощью следующего механизма, который включает в себя три основных этапа [5,10]:

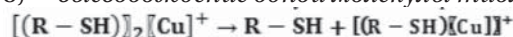
1) восстановление окисленной формы металла:



2) образование нестабильного комплексного вещества:



3) высвобождение одной молекулы тиола и образование более стабильного комплекса:



Для подтверждения и уточнения данных, полученных кинетическим методом, а также, чтобы убедиться в том, что глутатион с ионами меди (II) действительно образует комплексные соединения в аэробных условиях, был использован метод молярных отношений. При длине волны 296 нм была определена зависимость оптической плотности растворов смеси тиола и ионов меди от концентрации глутатиона. Концентрация ионов меди была постоянной ($1 \cdot 10^{-4} M$) [11]. Раствор смеси имел pH=3,23. При данных условиях метод показал, что формируется комплекс в соотношении [GSH]:[Cu(II)] = 2:1 (рис.1).

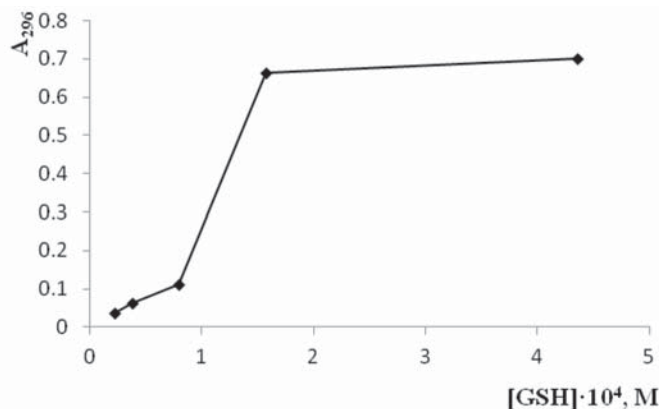


Рис.1. Зависимость оптической плотности медьсодержащих комплексов глутатиона от его концентрации в системе. [Cu(II)]=const.= $1 \cdot 10^{-4}$ M; pH=3,23; t=20°C

Исходя из литературных данных была выдвинута гипотеза, что формирование медьсодержащих комплексов глутатиона зависит от рН среды. Учитывая, что рН большинства природных вод варьирует в интервале 6,5–8,5 [12], было принято решение увеличить рН системы до нейтрального значения (рН=7,0) с помощью фосфатного буферного раствора (рис.2).

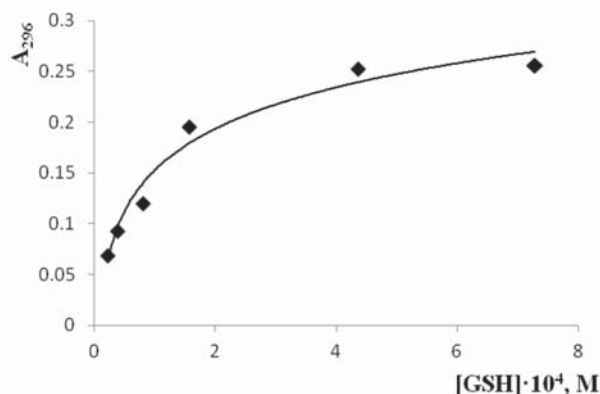


Рис.2. Зависимость оптической плотности медьсодержащих комплексов глутатиона от его концентрации в системе. [Cu(II)]=const.=1·10⁻⁴ М; рН=7,0; t=20°C

Результат показал, что в аэробных условиях при рН=7,00 образуются комплексные вещества с соотношением [GSH]:[Cu(II)]= 1:1; 2:1 и 4:1.

Заключение и выводы

Было доказано, что в аэробных условиях при рН=7, глутатион может образовывать комплексы в соотношении [GSH]:[Cu(II)]=1:1; 2:1 и 4:1, что указывает на то, что и в естественных условиях в природных водах могут образовываться такие же комплексы, и что при высоких концентрациях ионов меди в воде глутатион будет образовывать с ними комплексные соединения, тем самым способствуя процессу самоочищения природных вод и детоксикации гидробионтов путем исключения из водной среды ионов тяжелых металлов. Однако, учитывая тот факт, что ионы меди играют роль катализаторов в химических и биохимических процессах, а также то, что они входят в состав различных ферментных систем, исключение ионов меди из водной среды может иметь и негативные последствия для гидробионтов.

Работа выполнена в рамках проекта 20.80009.5007.27, финансируемого ANCD.

Литература

1. CHU C., STAMATELATOS D., MCNEILL K. Aquatic indirect photochemical transformations of natural peptidic thiols: impact of thiol properties, solution pH, solution salinity and metal ions. *Environmental Science: Processes & Impacts*, 2017, 19, pp. 1518-1527.
2. DUCA GH., BLONSCHI V., GLADCHI V., TRAVIN S. Dynamics of Different Sulfur Forms in Natural Waters and Their Influence on the Redox State, *American Journal of Physical Chemistry*. Vol. 9, No. 3, 2020, pp. 52-61.
3. GLADCHI V. *Transformările catalitice și starea redox a mediului ambiant: Monografie*. Chișinău: CEP USM, 2018. 211p;
4. JOE-WONG C., SHOENFELT E., HAUSER E.J., CROMPTON N., MYNENI S.C.B. Estimation of reactive thiol concentrations in dissolved organic matter and bacterial cell membranes in aquatic systems. *Environmental Science & Technology*, 2012, N46, p.9854-986.;
5. DUCA Gh., GLADCHI V., ROMANCIUC L. *Procese de poluare și autoepurare a apelor naturale*. Chisinau: CE USM, 2002. 145 p.;
6. BLONSCHI V., GLADCHI V. Influența acizilor humici asupra transformărilor fotochimice ale cisteinei în mediul acvatic. *Studia Universitatis Moldaviae, Ser. "Științe reale și ale naturii"*, 2019, nr.6 (126), pp. 74-77;
7. ELLMAN G. L. Tissue sulfhydryl groups. *Arch. Biochem. Biophys*, 1959. -№ 82, pp. 70 – 77;
8. RIDDLES P.W., BLAKELEY R.L., ZERNER B. Reassessment of Ellman's Reagent. *Academic Press*, 1983, Vol. 91, 12 p.;
9. DUCA Gh., GLADCHI V. *Lucrări practice la cursul metode fizice de cercetare*. Chisinau: CE USM, 2002. 141 p.;
10. БЛОНСКИ В. Взаимодействие цистеина с ионами меди (II) в водной среде. Международная научная конференция Молодые исследователи – регионам. Вологда, 2018. с. 533-535;
11. ФОКИНА А.И., ЛЯЛИНА Е.И., АШИХМИНА Т.Я., ЖАВОРОНКОВ В.И., ПЕТРАШ В.В., ДАНИЛОВ Д.Н. Исследование состава, устойчивости и токсичности медьсодержащих соединений глутатиона в водном растворе. *Фундаментальные исследования. Химические науки*, № 9, 2014, СС.757-762;
12. ДУКА Г.Г., ГОРЯЧЕВА Н.В., КЕТРУШ П.М., МИХЭЙЛЭ Г. *Гидрохимия*. Кишинев: Гос. университет Молдовы, 1995. 314с.