

XIII_475

ИНСТИТУТ ЗА ХЕМИЈА, ПРИРОДНОМАТЕМАТИЧКИ ФАКУЛТЕТ, УНИВЕРЗИТЕТ „КИРИЛ И МЕТОДИЈ“ СКОПЈЕ
ЗАВОД ЗА ПРЕВЕНТИВНА МЕДИЦИНА-ВМА, БЕЛГРАД

РЕАКЦИЈА НА МЕТАЛИРАНИТЕ ДЕРИВАТИ НА ХИСТИДИН СО ПАЛАДИУМ ХЛОРИД

REACTION OF METHYLIZED DERIVATE OF HISTIDINE WITH PALLADIUM (II) CHLORIDE

СТОЈАНОВА КОРНЕЛИЈА¹, ЉУБОМИР СТОЈАНОВИЌ², СИМКА ПЕТРОВСКА-ЈОВАНОВИЌ³

UDK: 577.1

Во последниве години сè почесто се среќаваат трудови што се однесуваат на квантитативното определување на 1-метилхистидин и 3-метилхистидин во урината, со примена на повеќе хроматографски методи.

Бидејќи хистидинот и неговите метилирани деривати се состојки на урината, од посебен интерес беше да се утврди дали и водените раствори на 1-метилхистидин и 3-метилхистидин реагираат со паладиум хлорид.

Користејќи го поларографскиот метод, беше утврдено дека метилираните деривати на хистидинот реагираат со паладиум-хлоридот. Реакцијата помеѓу Pd(II)-јоните и 1-метилхистидинот се одвива постепено и практично завршува по истекот на време од 60 минути. Со следење на реакцијата меѓу Pd(II)-јоните и 3-метилхистидинот беше утврдено дека масата на Pd(II)-јоните во почетниот и крајниот стадиум на реакцијата, речиси, не се разликуваат.

Со примена на едноставен поларографски метод може да се определат разликите во концентрациите на Pd(II)-јоните пред и по реакцијата со метилираните деривати на хистидинот и на тој начин да се користи во квантитативни цели.

Клучни зборови: поларографија, хистидин паладиумхлорид

Summary

A number of papers dealing with determination of 1-methylhistidine and 3-methylhistidine of urine using chromatography have appeared in the recent years.

Since histidine and its methyl derivatives are components of urine, our specific interest was to see if the aqueous solutions of 1-methylhistidine and 3-methylhistidine also react with palladium(II) chloride.

Using polarography, it was confirmed that the derivatives of histidine do react with palladium(II) chloride. The reaction between Pd²⁺ and 1-methylhistidine completes about 60 min. The study of the reaction between Pd²⁺ and 3-methylhistidine showed that the mass of Pd²⁺ at the end of the compared to the mass at the beginning of the reaction.

Using a simple polarographic method, it was possible to determine the difference in concentra-

tions of Pd²⁺ at the beginning and at the end of the reaction, and it is suitable for quantitative determinations.

Key word: histidin / palladium / chlorides / urine / polarography

На квантитативното определување на метилираните аминокиселини што се излучуваат при дневното уринирање, во последно време му се посветува големо внимание. Зголемениот интерес за точното познавање на масата од 1-метилхистидин (1-МН) и 3-метилхистидин (3-МН) во урината потекнува од фактот што нивната концентрација корелира со метаболизмот на скелетните мускули. На тој начин, излучената маса на 1-МН, а особено на 3-МН, при дневното уринирање би можела да биде индикатор за катаболизмот на мускулните протеини и за степенот на распаѓање на миофибралните протеини во жив примерок (1).

Во урина која потекнува од лица изложени на инхалација на отровни гасови, лица изложени на гладување, или лица со одредени органски заболувања, е утврдено значително зголемување на масата на 1-МН и на 3-МН (2-4).

Познато е дека тешките метали може да се сврзуваат со повеќе видови органски молекули, а особено со разни протеински лиганди кои содржат карбоксилна, хидроксилна, сулфохирилна, amino група и имидазоски прстен. Многу конститuentи на келиите, а пред сè аминокиселините и белковините, се способни да ги врзуваат тешките метали и да образуваат комплексни соединенија (5).

Еден од таквите тешки метали е паладиумот. Стојановиќ (6), со помош на поларографскиот метод, докажал дека Pd(II)-јоните се врзуваат со хистидинот од хемоглобинот во крвта. Со поларографско испитување на реакцијата помеѓу урина од здрави лица и воден раствор од PdCl₂ е утврдено дека урината, исто така, ги врзува Pd(II)-јоните во одреден однос (7).

Бидејќи хистидинот и неговите метилирани деривати се состојки на урината, кај нас се поја-

1.3. хемичар, проф. д-р по хемиски науки
2. фармацевт, проф. д-р фармација

ви интерес да се испита дали водените раствори на 1-МН и 3-МН реагираат со PdCl_2 и дали се тие главните врзувачи на Pd(II) -јоните.

ЕКСПЕРИМЕНТАЛЕН ДЕЛ

Апаратура

Мерењата се вршени со поларограф Radiometer – Polariter P04 со автоматско регистрирање на кривите струја-напон. Употребена е електролитска ќелија со работна живина електрода што капе и референтна заситена Камелова електрода. Сите раствори беа термостатирани на температура од $289 \pm 0,1$ К. Работниот напон се движеше од $-0,4$ V до $-1,0$ V, при осетливост на апаратурата $6,0 \cdot 10^{-3}$ μA . Во сите испитувани системи беше воведуван прочистен водород во време од 5 минути.

Раствори и реagensи

Воден раствор од PdCl_2 со концентрација $2,5$ mmol/dm^3 е приготвен од р.а. PdCl_2 , производ на фирмата Merck, и редистилирана вода. Процесот на хидролиза е спречен со додавање 10 капки концентрирана HCl со густина $1,19$ g/cm^3 .

Водени раствори на L-хистидин со концентрација $6,4$ mmol/dm^3 , 1-метилхистидин и 3-метилхистидин со концентрации $5,9$ mmol/dm^3 се приготвени од р.а. супстанции, производ на фирмата Sigma, со редистилирана вода.

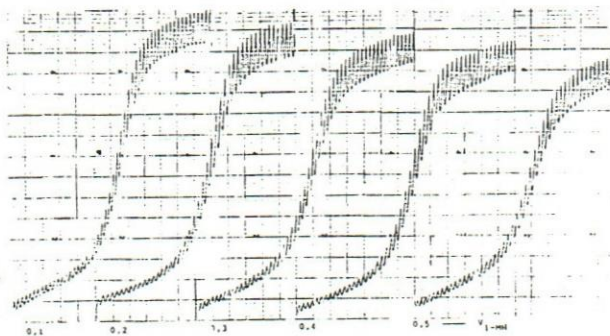
Основен електролит претставува смеса на водени раствори на NH_4OH и NH_4Cl , секој со концентрација 1 mol/dm^3 .

Резултати и дискусија

Детално е следена зависноста на дифузииската струја (I_d) од волуменот на 1-МН и 3-МН, при константен волумен на раствор од PdCl_2 , во кој се присутни 1330 μg Pd(II) -јони.

Експерименталните резултати за испитуваната реакција со 1-МН, поткрепени со поларограмите, прикажани на слика 1, се дадени во табела I, каде што се $V_{1\text{-МН}}$ е означен волуменот од 1-МН; m претставува маса на неизреагирани Pd(II) -јони; I_d е дифузииска струја на изреагираните Pd(II) -јони.

Од вредностите за волумените на растворот од 1-МН и масите на врзаните Pd(II) -јони (m'),



Сл.1 Поларограми за промената на дифузииската струја со промена на волуменот на раствор од 1-МН при константен волумен од раствор на PdCl_2

Табела I. Зависност на дифузииската струја при реакцијата помеѓу воден раствор на PdCl_2 и волуменот на 1-МН

$V_{1\text{-МН}}$ cm^3	I_d nA	m μg	I'_d nA	m' μg
0,10	630	1091	138	239
0,15	505	1031	173	299
0,20	580	1005	188	325
0,25	550	953	218	377
0,30	540	936	228	394
0,35	490	849	278	481
0,40	475	823	293	507
0,45	455	789	313	541
0,50	435	754	313	576

од табелата I, по методот на најмали квадрати, најдена е равенката на калибрационата крива, која гласи:

$$m' = 161 + 847 V_{1\text{-МН}}$$

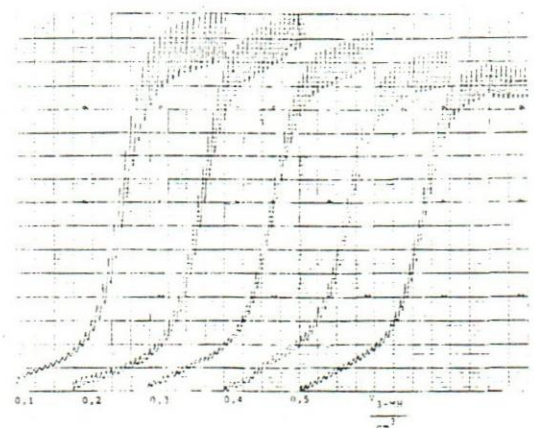
Може да се констатира дека со $0,20$ cm^3 раствор од 1-МН, во кој се присутни $200\mu\text{g}$ од 1-МН (8), изреагирала маса на Pd(II) -јони (m') во износ:

$$m' = 330 \mu\text{g}$$

При константен волумен на растворот од PdCl_2 , поларографски е следена и промената на дифузииската струја од волуменот на водениот раствор на 3-МН ($V_{3\text{-МН}} = 0,10 - 0,50$ cm^3) со концентрација $5,9$ mmol/dm^3 . Експерименталните резултати од овие испитувања, дадени со поларограмите, се прикажани на слика 2, односно на табела II.

На идентичен начин како и во претходниот случај, од вредностите за волумените на растворот од 3-МН и масите на врзаните Pd(II) -јони (m'), од табелата II, добисна е следнава равенка на калибрациона крива:

$$m' = -2 + 614 V_{3\text{-МН}}$$



Сл.2 Поларограми за промената на дифузииската струја со промена на волуменот на раствор од 3-МН при константен волумен од раствор на PdCl_2

Табела II. Зависност на дифузииската струја при реакцијата помеѓу воден раствор на PdCl_2 и волуменот на 3-МН

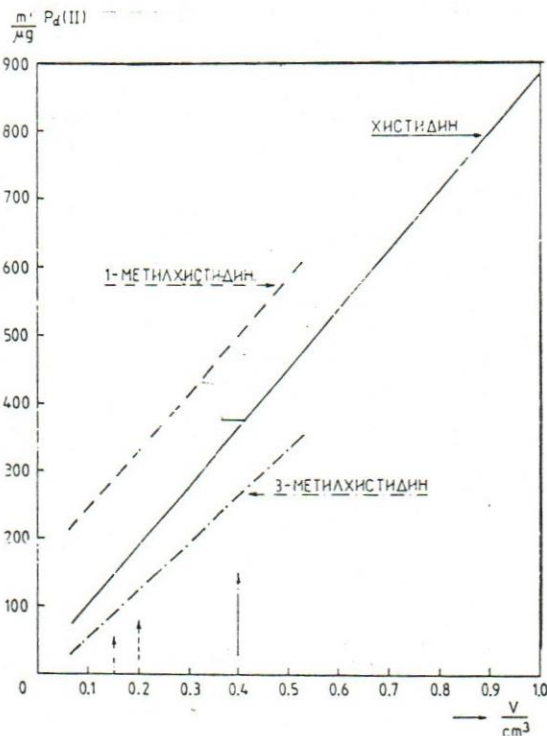
$V_{3\text{-МН}}$ cm^3	I_d μA	m μg	I_d' μA	m' μg
0,10	735	1273	33	57
0,15	720	1247	48	83
0,20	696	1205	72	125
0,25	685	1186	83	144
0,30	652	1129	115	201
0,35	645	1117	123	213
0,40	628	1088	140	242
0,45	610	1057	158	273
0,50	595	1037	173	299

Се констатира дека со $0,15 \text{ cm}^3$ раствор од 3-МН, во кој се присутни $150 \mu\text{g}$ од 3-МН (8), изреагирала маса на Pd(II) -јони (m') во износ:

$$m' = 90 \mu\text{g}$$

Евидентно е дека и во двата случаја вредностите на дифузииската струја опаѓаат со растењето на волуменот на растворите од 1-МН и 3-МН. Тоа значи дека со зголемување на волуменот на растворите се зголемува и масата на врзаните, односно изреагираните Pd(II) -јони, што графички може да се прикаже со линеарна зависност.

Споредувањето на зависноста на масата на врзаните Pd(II) -јони од волуменот на метилира-



Сл.3 Калибрациони криви за зависноста на масата на врзаните Pd(II) -јони од волуменот на растворите на хистидин, 1-МН и 3-МН

ните деривати на хистидинот е вршено со кривата на хистидинот добиена од равенката:

$$m' = 14 + 864 V_H$$

Од ова произлегува дека со $0,40 \text{ cm}^3$ раствор од хистидин, во кој се присутни $400 \mu\text{g}$ хистидин (8), изреагирала маса на Pd(II) -јони (m') во износ:

$$m' = 359 \mu\text{g}$$

На слика 3 се прикажани зависностите на масите на изреагираните, односно на врзаните Pd(II) -јони од волумените на растворите на хистидин, 1-МН и 3-МН.

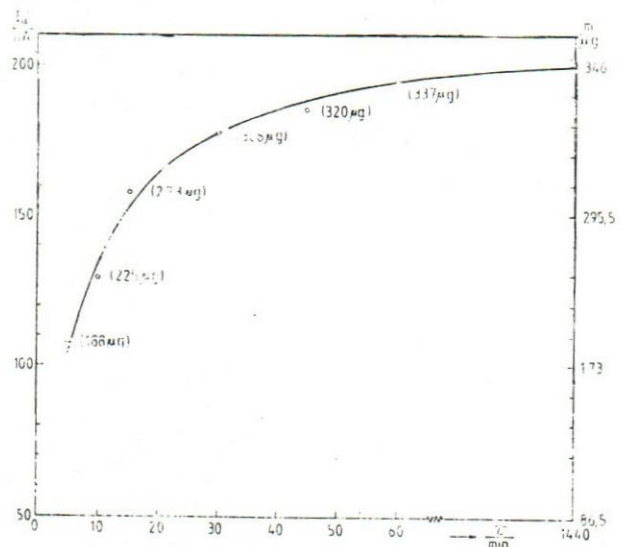
Евидентна е линеарната зависност, како и фактот дека 1-МН е онаа компонента што најмногу ги врзува Pd(II) -јони.

Кинетиката на реакцијата меѓу водените раствори на хистидин и PdCl_2 е следена од Стојадиновиќ (6). Од наша страна беше следена реакцијата меѓу водениот раствор на 1-МН и Pd(II) -јони. Притоа беше утврдено дека реакцијата се одвива постепено и практично завршува по истекот на време од 60 минути, што е прикажано на слика 4.

При детално следење на кинетиката на реакцијата помеѓу растворите на 3-МН и PdCl_2 , е констатирано дека масите на врзаните Pd(II) -јони во 5-тата и во 60-тата минута од реакцијата практично не се разликуваат, што значи дека 3-МН веднаш ги врзуваат Pd(II) -јоните.

Сите овие поларографски испитувања на реакцијата меѓу водените раствори на хистидинот, 1-МН и 3-МН со PdCl_2 недвосмислено покажуваат дека трите компонентни ги врзуваат Pd(II) -јоните во одреден квантитативен однос.

Според литеаратурните податоци (8) за составот на урината со нормален лабораториски наод, покрај уреата, доминантни компоненти се хистидинот и неговите метилирани деривати. Експериментите направени со математички мо-



Сл.4 Кинетика на реакцијата меѓу константен волумен на раствор од PdCl_2 и $0,2 \text{ cm}^3$ раствор од 1-метилхистидин

дел на урина покажаа дека 94% од вкупната маса на Pd(II)-јоните ја врзуваат токму овие три компоненти. Притоа, хистидинот врзува 43%, 1 МН околу 40%, додека 3-МН околу 11%.

Како резултат на сето ова произлегува дека паладометриско-поларографскиот метод со успех може да се користи како едноставен метод за определување на вкупната маса на испитуваните компоненти. Поединечното определување на масите на одделни компоненти во урината е можно, ако по пат на сепарација бидат елиминирани преостанатите состојки во урината што реагираат со Pd(II)-јоните.

Литература

1. Z. Friedman, H.W. Smith, W. S. Hancock, J. Chromatography, 182, 414, (1980).
2. D. T. Di Ferante, N.Y. Wilson, C. S. Leach, J. Chromatography, 187, 271, (1980).
3. H. Vielma, J. Mendez, J. Chromatography, 196, 166, (1980).

4. L. Cotellessa, F. Marcucci, D. Cani, P. Sfondrini, L. Colombo, E. Mussini, J. Chromatography, 221, 149, (1980).
5. D. Ćurić: Biohemija i biofizika industrijskih otrova, Zavod za stručno usavršavanje zdravstvenih radnika, Beograd, 1173, (1966).
6. Lj. Stojadinović: doktorska disertacija, VMA, Beograd, (1976).
7. К. Стојанова, Б. Топузовски, Љ. Стојадиновиќ, Д. Јовановиќ: Годишен зборник на Хемискиот факултет, 32, 79, Скопје (1982).
8. H. A. Harper, V. W. Rodwell, P.A. Mayes, Review of Physiological Chemistry, Lange Medical Publication, Los Altos-California (1979).

Трудот е пристигнат во Редакцијата на 17. II 1992 година.

Казуистика

МАК. МЕД. ПРЕГЛЕД, 5-6, 146-148, 1991

ЗДРАВСТВЕН ДОМ НЕГОТИНО

КОНГЕНИТАЛНИ АНОМАЛИИ НА УТЕРУСОТ, ОТКРИЕНИ ПРИ ХСГ

CONGENITAL UTERINE ANOMALIES DETECTED BY HYSTEOSALPINGOGRAPHY (HSG)

ТРАЈКОВСКИ ЈОВАН, ЈАНКОВ СТОЈАНЧО, КОЦЕВ ВЛАДИМИР, ПЕТРОВСКИ СИМОН, КОСТАДИНОВА БЛАГИЦА

UDK: 618.14-007.053.1-073

Авторите анализираат 225 ХСГ на несектиран материјал. На нивната серија нашле 1,20% конгенитални аномалии. Во овие аномалии не се вклучени *Uterus hypoplasticus* и *uterus infantilis*. Работено е со стандардна техника, тимски, под контрола на ТВ монитор. Како контраст се користени хидровискозни и високопроцентни хидро-солубилни контрастни средства. ХСГ им дава солидни податоци за понатамошниот терапевтски пристап. Посебни компликации немале. Авторите методот го препорачуваат како рутински. Ако дојде до забременување 6 месеци од ХСГ, ги препорачуваат пациентките на понатамошно клиничко и лабораториско иследување и терапија.

Summary

Among 225 consecutive patients examined by hysterosalpingography (HSG), congenital anomalies were found in 27 (1.2%). The HSG examinations were performed by standard technique, using hydroviscous or highly hydrosoluble contrast preparations. The most frequent anomaly has been *uterus bicornis unicornis*, encountered in 14 (51.85%) of the cases.

Further therapeutic approaches, especially if pregnancy occurred within 6 months after the HSG, are considered.

Key words: uteri+abnormalities / hysterosalpingography / infertility, female / pregnancy

Утерусот настанува со фузија на Müller-овите канали во средната третина. Настанувањето на конгениталните аномалии на утерусот се објаснува со нарушувања кои настануваат во онтогенетскиот развој на Müller-овите канали (Палчевски). Во зависност од времетраење и степено на дејствување на штетниот фактор во ембрионалниот развој, настануваат неправилности и аномалии на гениталните органи, кои можат да бидат најразлични.

Жените се обраќаат најчесто во фертилниот период заради стерилитет, инфертилитет, олигоамеореа, дисменореа и друго.

При анализата на аномалиите на утерусот ја користевме класификацијата на Semmons (1962):