

УДК 544.54:547.792

ВЛИЯНИЕ НИТРОПРОИЗВОДНЫХ 1,2,4-ТРИАЗОЛА НА РАДИАЦИОННО-ИНДУЦИРОВАННОЕ ОКИСЛЕНИЕ ЭТАНОЛА

© 2021 г. С. Д. Бринкевич^а, А. Я. Малиборский^{а, б}, И. А. Капусто^а,
Р. Л. Свердлов^{а, б}, Ю. В. Григорьев^б, О. И. Шадыро^{а, б, *}

^аБелорусский государственный университет, просп. Независимости, 4, Минск, 220030 Беларусь

^бНаучно-исследовательский институт физико-химических проблем Белорусского государственного университета,
ул. Ленинградская, 14, Минск, 220006 Беларусь

*E-mail: shadyro@tut.by

Поступила в редакцию 28.07.2020 г.

После доработки 20.08.2020 г.

Принята к публикации 02.09.2020 г.

В работе было изучено влияние 1,2,4-триазола и его нитропроизводных на образование конечных молекулярных продуктов радиационно-индуцированных превращений этанола, насыщенного кислородом. Установлено, что тестируемые соединения практически не разлагаются в ходе радиолиза, при этом они незначительно снижают или не оказывают влияние на величины радиационно-химических выходов H_2O_2 и ацетальдегида. Полученные данные свидетельствуют о том, что нитропроизводные 1,2,4-триазола проигрывают конкуренцию кислороду за α -гидроксиэтильные радикалы и не взаимодействуют с кислородцентрированными радикалами, образующимися в системе. Рассчитанная с использованием инструментария метода конкурирующих реакций константа скорости реакции окисления α -гидроксиэтильных радикалов нитропроизводными 1,2,4-триазола составляет $k \leq 4.6 \times 10^9 \text{ л моль}^{-1} \text{ с}^{-1}$.

Ключевые слова: нитропроизводные 1,2,4-триазола, радиосенсибилизаторы, саназол, α -гидроксиэтильные радикалы, этанол, стационарный радиолиз

DOI: 10.31857/S002311932101006X

ВВЕДЕНИЕ

Нитроазолы являются важным классом фармакологически активных соединений. Они используются в качестве противопротозойных препаратов, эффективны в отношении широкого спектра анаэробных бактериальных инфекций, проявляют иммуномодулирующее действие [1]. В комплексной терапии онкологических заболеваний нитроазолы применяют для хемо- и радиосенсибилизации злокачественных новообразований, которые развиваются в условиях частичной или жесткой гипоксии [2, 3].

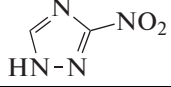
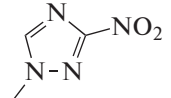
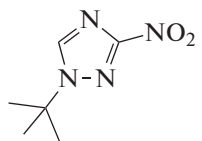
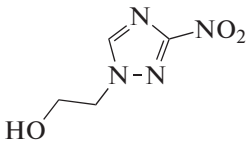
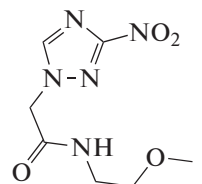
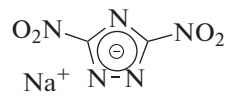
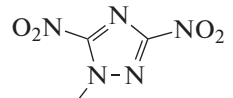
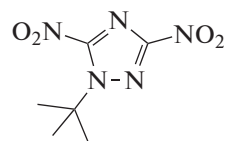
Опухоли, которые из-за особенностей своего метаболизма, морфологии или интенсивного роста, опережающего развитие сосудистой сети, обладают пониженным парциальным давлением кислорода, имеют низкую чувствительность, как по отношению к ионизирующим излучениям, так и химиотерапевтическим препаратам [4]. Считается, что благодаря способности акцептировать электроны нитропроизводные азотсодержащих гетероциклических соединений работают как “миметики кислорода” в гипоксических клетках и “фиксируют” радиационные повреждения, возникающие в условиях облучения опухолевой ткани [5].

Хотя радиосенсибилизаторы на основе нитроазолов показали себя эффективными при лучевой

терапии большинства видов опухолей, отмечается их высокая токсичность. В частности, эти соединения способны вызывать поражения периферической нервной системы, почек и мочеполовой системы, аллергические реакции [6–9], что сильно ограничивает возможности их использования. Для решения проблемы токсичности радиосенсибилизаторов, необходимо детальное понимание механизма их радиационно-индуцированных превращений, как в модельных системах, так и *in vivo*.

В работе [10] методом стационарного радиолиза нами было изучено взаимодействие нитропроизводных 1,2,4-триазола с углеродцентрированными радикалами. Было показано, что данные соединения способны эффективно ингибировать реакции рекомбинации α -гидроксиэтильных радикалов (α -ГЭР) за счет их окисления. При облучении живых организмов радиобиологические повреждения происходят преимущественно в результате воздействия кислородцентрированных радикалов на биологически важные соединения, в результате чего образуются H_2O_2 , органические пероксиды и другие активные формы кислорода, выполняющие на клеточном уровне сигнальные и регуляторные функции [11, 12]. В настоящей работе для исследования способности нитропроиз-

Таблица 1. Структурные формулы используемых в работе соединений

№	Название	Структура
I	1,2,4-триазол	
II	3-нитро-1,2,4-триазол	
III	1-метил-3-нитро-1,2,4-триазол	
IV	1-трет-бутил-3-нитро-1,2,4-триазол	
V	1-(2-гидроксиэтил)-3-нитро-1,2,4-триазол	
VI	Саназол	
VII	3,5-динитро-1,2,4-триазолат натрия	
VIII	1-метил-3,5-динитро-1,2,4-триазол	
IX	1-трет-бутил-3,5-динитро-1,2,4-триазол	

водных 1,2,4-триазола регулировать свободнорадикальные реакции, протекающие с участием кислородцентрированных радикалов, мы изучили влияние данных веществ на образование конечных молекулярных продуктов радиационно-индуцированных превращений оксигенированного этанола.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Структурные формулы использовавшихся в работе производных 1,2,4-триазола приведены в табл. 1. Соединения II–V, VII–IX получены в Лаборатории химии конденсированных сред

НИИ ФХП БГУ по методикам, описанным в работах [10, 13, 14]. Коммерчески доступные соединения I и VI, ацетальдегид фирмы Aldrich, а также метанол для масс-спектрометрии компании J.T. Baker использовали без предварительной очистки.

Для радиационно-химического эксперимента использовали этиловый спирт марки “Люкс” (96 об. %) после дополнительной ректификации. Для приготовления растворов тестируемых соединений в этаноле с концентрацией 1×10^{-3} моль/л использовали весовой метод. Полученные растворы нитропроизводных 1,2,4-триазола насы-

Таблица 2. Влияние 1,2,4-триазола и его нитропроизводных на радиационно-индуцированные превращения этанола, насыщенного кислородом

Тестируемое соединение	Радиационно-химический выход (G), молекула/100 эВ		
	Ацетальдегид	Пероксид водорода	Разложение добавки
Без добавок	13.66 ± 0.53	11.80 ± 0.49	—
1,2,4-Триазол (I)	12.02 ± 0.61	10.75 ± 0.42	−0.20 ± 0.07
3-Нитро-1,2,4-триазол (II)	11.29 ± 0.98	10.73 ± 0.39	−0.06 ± 0.03
1-Метил-3-нитро-1,2,4-триазол (III)	12.46 ± 0.38	10.01 ± 0.48	−0.13 ± 0.10
1- <i>мет</i> -Бутил-3-нитро-1,2,4-триазол (IV)	13.51 ± 0.79	10.52 ± 1.29	−0.14 ± 0.11
1-(2-Гидроксиэтил)-3-нитро-1,2,4-триазол (V)	14.38 ± 1.28	11.01 ± 1.30	−0.4 ± 0.14
Саназол (VI)	13.27 ± 0.98	11.94 ± 0.78	−0.09 ± 0.19
3,5-Динитро-1,2,4-триазолат натрия (VII)	11.86 ± 1.10	11.39 ± 0.68	−0.01 ± 0.15
1-Метил-3,5-динитро-1,2,4-триазол (VIII)	10.84 ± 0.53	10.78 ± 1.06	−0.10 ± 0.13
1- <i>мет</i> -Бутил-3,5-динитро-1,2,4-триазол (IX)	10.61 ± 0.69	10.70 ± 0.98	−0.13 ± 0.15

щали кислородом (с чистотой не менее 99.95%) в мерной посуде в течение 60 мин, после чего объем испарившегося растворителя компенсировали оксигенированным этанолом, растворы перемешивали. Предварительно продутые кислородом флаконы заполняли растворами и запаивали.

Облучение образцов проводили на установке МРХ-γ-25М с источником ^{60}Co . Мощность поглощенной дозы составляла 0.148 ± 0.008 Гр/с. Интервал поглощенных доз — 0.096–0.480 кГр.

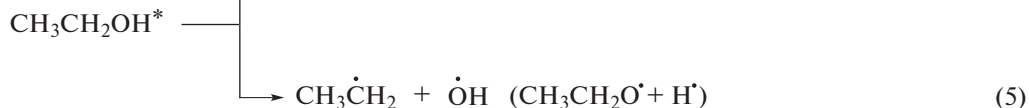
Выходы разложения добавок определяли спектрофотометрически на Specord S600 по модифицированной методике [15]. Накопление продуктов радиационно-химических превращений этанола — ацетальдегида (АА) и пероксида водорода (H_2O_2) регистрировали газохроматографически на Shimadzu GC-17A и реангентно-спектрофотометри-

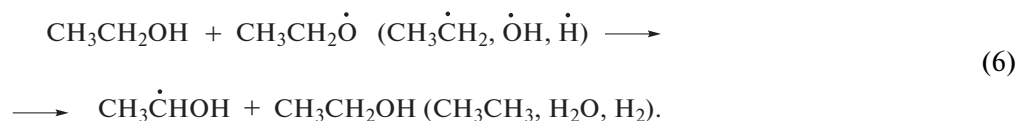
чески соответственно по методикам, описанным в работах [16] и [17].

Обработка экспериментальных данных и расчет радиационно-химических выходов (G, молекула/100 эВ) детально рассмотрены в работах [16, 17].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

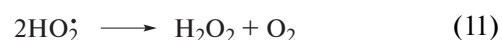
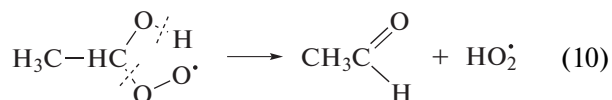
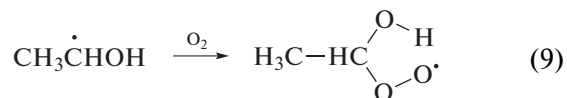
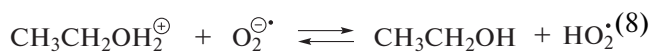
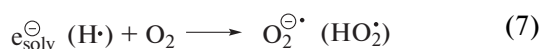
Радиолиз этанола является удобным способом для изучения реакционной способности исследуемых соединений по отношению к углерод- и кислородцентрированным радикалам [18, 19], который показал свою полезность при поиске новых фармакологически активных соединений [17, 20]. В деаэрированном этаноле основным радикальным продуктом радиационно-индуцированных превращений являются α -ГЭР, которые образуются с суммарным радиационно-химическим выходом ~5.5 частиц/100 эВ [18] в результате реализации реакций (3), (4), (6).



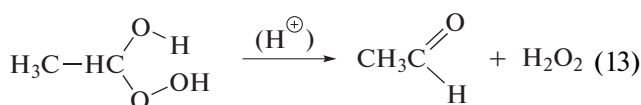
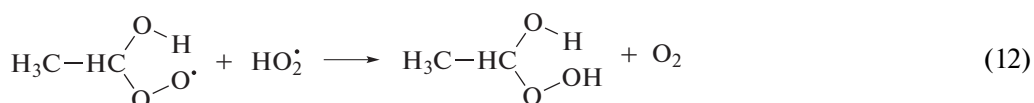


При облучении насыщенного кислородом этанола сольватированный электрон и $\text{H}\cdot$ взаимодействуют с кислородом с образованием $\text{O}_2^{\bullet-}$ и $\text{HO}_2\cdot$ по реакции (7). Обе частицы находятся в протолитическом равновесии (8), при этом в этанольных растворах доля гидропероксильного радикала ($\text{HO}_2\cdot$) превосходит таковую для $\text{O}_2^{\bullet-}$.

Молекулярный кислород присоединяется с диффузионно-лимитируемой скоростью ($k \sim 4.6 \times 10^9$ л моль $^{-1}$ с $^{-1}$ [21]) к α -ГЭР с образованием гидроксиэтилпероксильных радикалов (9), которые подвергаются фрагментации по реакции (10) с образованием ацетальдегида и гидропероксильных радикалов. Диспропорционирование последних приводит к накоплению пероксида водорода (11):



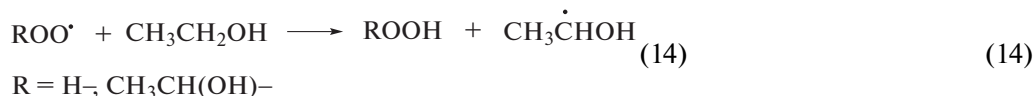
Один из продуктов реакции кросс-диспропорционирования кислородцентрированных радикалов (12) — α -гидроксиэтилпероксид — неустойчив и в присутствии доноров протона, например, воды или этанола, распадается на H_2O_2 и АА по реакции (13).



Как видно из реакций (7)–(10), α -гидроксиэтилпероксильные и гидропероксильные радикалы являются основными радикальными продуктами радиолитического окисления этанола, поэтому облучение тестируемых веществ в этой системе позволяет изучить их взаимодействие с кислородцентрированными радикалами. Полученные в работе значения радиационно-химических

выходов образования АА и H_2O_2 , а также разложения 1,2,4-триазола (I) и его нитропроизводных (II–IX) приведены в табл. 2.

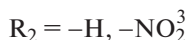
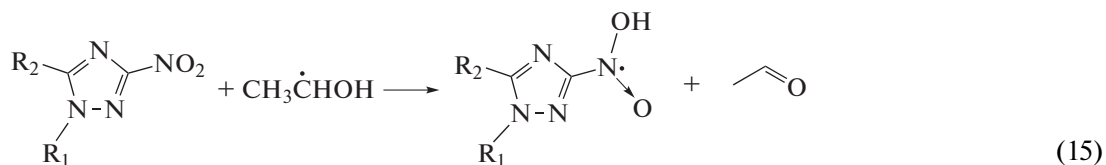
Можно заметить, что радиационно-химический выход АА, наблюдаемый при радиолитическом окислении этанола в отсутствие добавок, более чем в 2 раза превышает выход α -ГЭР. Это свидетельствует о том, что окисление этанола при небольшой мощности поглощенной дозы (0.148 ± 0.008 Гр/с) происходит по короткоцепному механизму, вследствие протекания реакции (14):



Из данных, представленных в табл. 2, можно заметить, что при облучении этанола, насыщенного кислородом, в присутствии веществ (IV–VII) выходы конечных молекулярных продуктов радиолитического окисления не изменились по сравнению с системой без добавок или же изменялись в пределах погрешности измерения выхода. Соединения (I–III, VIII, IX) незначительно снижают выходы АА и

H_2O_2 . Важно также отметить, что все исследуемые производные 1,2,4-триазола (I–IX) практически не разлагаются при радиолитическом окислении.

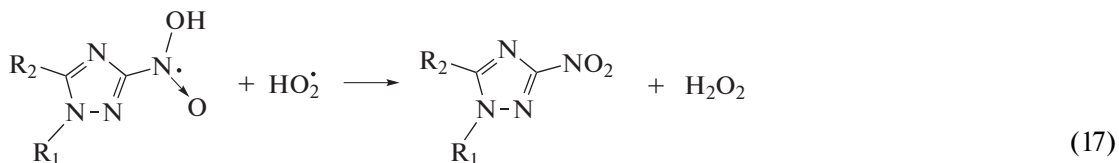
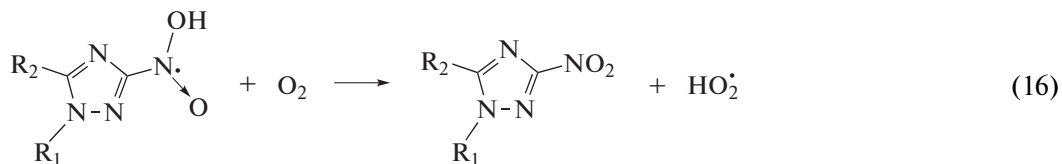
Ранее нами было показано, что в отсутствие кислорода нитропроизводные 1,2,4-триазола (II–IX) эффективно окисляют α -ГЭР по реакции (15), препятствуя протеканию реакций их рекомбинации и диспропорционирования [10]:



Также было установлено, что сильные окислители, например производные 1,4-бензохинона, способны подавлять радиационно-индуцированные превращения оксигенированного этанола за счет окисления α -ГЭР [22].

Поскольку нитропроизводные 1,2,4-триазола (II–IX) не влияют или лишь незначительно снижают выходы основных продуктов радиолитического окисления этанола, можно сделать вывод, что данные вещества скорее всего проигрывают конкуренцию кислороду за углеродцентрированные радикалы. При облучении соединений (II–IX) в оксигенированном этаноле реакция (9) будет превалировать над (15).

Незначительное снижение выходов АА и пероксида водорода, наиболее выраженное для N-алкилированных производных 1,2,4-триазола, содержащих 2 нитрогруппы (VIII, IX), может быть обусловлено слабой способностью тестируемых соединений окислять α -ГЭР по реакции (15). Образующийся продукт одноэлектронного восстановления нитрогруппы может регенерироваться до исходного соединения либо в результате передачи атома водорода на молекулярный кислород по реакции (16), либо в результате диспропорционирования с $\text{HO}_2^\bullet$ (17). В последнем случае происходит терминция короткоцепного процесса окисления этанола.



Низкие значения радиационно-химических выходов разложения 1,2,4-триазолов (I–IX) и их незначительное влияние на выходы АА и H_2O_2 свидетельствуют о малой реакционной способности веществ (I–IX) как по отношению к $\text{HO}_2^\bullet$, так и $\text{RO}_2^\bullet$. Таким образом, 1,2,4-триазол (I) и его нитропроизводные (II–IX) не взаимодействуют с кислородцентрированными пероксильными радикалами, образующимися при радиолитическом окислении оксигенированного этанола.

Полученные экспериментальные данные позволяют с использованием инструментария метода конкурирующих реакций оценить верхнюю

границу значений констант скорости реакции нитропроизводных 1,2,4-триазола (II–IX) с α -ГЭР. Оба уравнения для скорости взаимодействия α -ГЭР с кислородом и нитропроизводными 1,2,4-триазола описываются выражениями для реакций второго порядка. Поскольку растворимость кислорода в этаноле при 20°C составляет 1.015×10^{-2} моль/л [23], соотношение концентраций O_2 : нитроазол равно 10 : 1. В присутствии веществ (II, III, VIII, IX) снижение $G(\text{H}_2\text{O}_2)$ составляет ~10%, поэтому соотношение скоростей реакций (9) и (15) можно так же принять равным 10 : 1. Таким образом, константа скорости реакции окисления α -ГЭР нитропроизводными 1,2,4-триазола

(II, III, VIII, IX) примерно равна константе скорости реакции присоединения кислорода к α -ГЭР (4.6×10^9 л моль⁻¹ с⁻¹). Поскольку в присутствии соединений (IV–VII) снижение радиационно-химических выходов продуктов радиолиза оксигенированного этанола еще слабее или вовсе отсутствует, для них константа скорости реакции окисления α -ГЭР будет меньше 4.6×10^9 л моль⁻¹ с⁻¹.

Выявленные закономерности радиационной химии нитропроизводных 1,2,4-триазола (II–IX) могут быть полезны для понимания молекулярных механизмов формирования радиобиологических эффектов радиосенсибилизаторов. Фармакологическая активность нитроазолов и, в частности, саназола (VI), применяемого в клинической практике при лучевой терапии опухолей, будет сильно зависеть от парциального давления кислорода, достигая максимума в аноксичных клетках. В условиях недостатка или отсутствия кислорода саназол (VI) и структурно родственные нитроазолы будут окислять гидроксилсодержащие углеродцентрированные радикалы биомолекул (подобно O₂ в тканях с нормальной оксигенацией), усиливая радиобиологические повреждения в облучаемом очаге.

ВЫВОДЫ

В работе методом стационарного радиолиза исследовано взаимодействие нитро- (II–VI) и динитропроизводных (VII–IX) 1,2,4-триазола с кислородцентрированными радикалами, образующимися при радиолизе насыщенного кислородом этанола. Установлено, что нитропроизводные 1,2,4-триазола незначительно снижают (соединения II, III, VIII, IX) или не оказывают влияния (соединения IV–VII) на величины радиационно-химических выходов продуктов радиолиза оксигенированного этанола, при этом тестируемые соединения практически не разлагаются. Показано, что все исследованные соединения (I–IX) не взаимодействуют с кислородцентрированными радикалами, образующимися при радиолизе этанола, насыщенного кислородом, а также проигрывают кислороду конкуренцию за α -ГЭР. Значения констант скорости реакции окисления α -ГЭР нитропроизводными 1,2,4-триазола (II–IX) было оценено величиной $k \leq 4.6 \times 10^9$ л моль⁻¹ с⁻¹. Полученные в работе результаты имеют большое значение для понимания молекулярных механизмов формирования радиационных повреждений при лучевой терапии онкологических заболеваний с использованием радиосенсибилизаторов на основе нитроазолов.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке совместного гранта № X20MB-014 Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследова-

ований и Министерства образования Республики Беларусь.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Машиковский М. Д.* Лекарственные средства. М.: Новая волна, 2019. 1216 с.
2. *Overgaard J.* // J. Clinical Oncology. 2007. V. 25. № 26. P. 4066–4074.
3. *Smithen C.E., Hardy C.R.* // Advanced topics on radiosensitizers of hypoxic cells. Springer, 1982. P. 1–47.
4. *Rockwell S., Dobrucki I.T., Kim E.Y., Marrison S.T., Vu V.T.* // Current molecular medicine. 2009. V. 9. № 4. P. 442–458.
5. *Adams G.E.* // Brit. Med. Bull. 1973. V. 29. № 1. P. 48–53.
6. *Wang H., Mu X., He H., Zhang X.D.* // Trends in Pharmacological Sciences. 2018. V. 39. № 1. P. 24–48.
7. *Urtasun R.C., Chapman J.D., Feldstein M.L., Band R.P., Rabin H.R., Wilson A.F., Marynowski B., Starreveld E., Shnitka T.* // The British J. Cancer. Supplement. 1978. V. 3. P. 271.
8. *Barker H.E., Paget J.T., Khan A.A., Harrington K.J.* // Nature reviews Cancer. 2015. V. 15. № 7. P. 409–425.
9. *Kapoor K., Chandra M., Nag D., Paliwal J.K., Gupta R.C., Saxena R.C.* // International J. Clinical Pharmacology Research. 1999. V. 19. № 3. P. 83–88.
10. *Бринкевич С.Д., Малиборский А.Я., Капусто И.А., Свердлов Р.Л., Григорьев Ю.В., Ивашикевич О.А., Шадыро О.И.* // Химия высоких энергий. 2019. Т. 53. № 2. С. 140–147.
11. *Oswald M.C., Garnham N., Sweeney S.T., Landgraf M.* // FEBS letters. 2018. V. 592. № 5. P. 679–691.
12. *Reczek C.R., Chandel N.S.* // Current Opinion in Cell Biology. 2015. V. 33. P. 8–13.
13. *Haiges R., Belanger-Chabot G., Kaplan S.M., Christie K.O.* // Dalton Transactions. 2015. V. 44. № 16. P. 7586–7594.
14. *Sukhanova A.G., Sakovich G.V., Sukhanov G.T.* // Chemistry of Heterocyclic Compounds. 2008. V. 44. № 11. P. 1368–1373.
15. *Samovich S.N., Brinkevich S.D., Edimecheva I.P., Shadyro O.I.* // Radiation Physics and Chemistry. 2014. V. 100. P. 13–22.
16. *Sverdlov R.L., Brinkevich S.D., Shadyro O.I.* // Free radical research. 2014. V. 48. № 10. P. 1200–1205.
17. *Бринкевич С.Д., Кузьмук Д.А., Свердлов Р.Л., Шадыро О.И.* // Химия высоких энергий. 2019. Т. 53. № 6. С. 478–483.
18. *Freeman G.R.* Reaction Rate Parameters, and Spectral Properties of Transients, NSRDS-NBS. 1974. V. 48. P. 18.
19. *Лукаев А.К.* Современная радиационная химия: Радиолиз газов и жидкостей. Современная радиационная химия. М.: Наука, 1986.
20. *Shadyro O.I., Glushonok G.K., Glushonok T.G., Edimecheva I.P., Moroz A.G., Sosnovskaya A.A., Yurkova I.L., Polozov G.I.* // Free radical research. 2002. V. 36. № 8. P. 859–867.
21. *Adams G.E., Willson R.L.* // Transactions of the Faraday Society. 1969. V. 65. P. 2981–2987.
22. *Shadyro O.I., Sosnovskaya A.A., Edimecheva I.P., Ostrovskaya N.I., Kazem K.M.* // High Energy Chemistry. 2008. V. 42. № 2. P. 83–88.
23. *Oxygen and ozone: Solubility data series* / Eds. R. Battino. N.Y.: Pergamon, 1981. V. 7. 519 p.