

РАДИАЦИОННАЯ ХИМИЯ

УДК 544.54;547.422.22;66.096.3

РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ И ЕГО ДЕЙТЕРИРОВАННОГО ПРОИЗВОДНОГО В ДЕАЭРИРОВАННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРАХ

© 2023 г. О. В. Урбанович^{a, *}, А. И. Давыденко^a, Р. Л. Свердлов^{a, b},
А. В. Бекиш^c, С. Б. Ластовский^d, Е. В. Точилин^d

^a Белорусский государственный университет, пр. Независимости, 4, Минск, 220030, Республика Беларусь

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

^c Институт физико-органической химии НАН Беларуси, ул. Сурганова, 13, Минск, 220072, Республика Беларусь

^d Научно-практический центр НАН Беларуси по материаловедению, ул. Петруся Бровки, 19, Минск, 220072, Республика Беларусь

*E-mail: olga.urbanovich@gmail.com

Поступила в редакцию 21.04.2023 г.

После доработки 17.05.2023 г.

Принята к публикации 19.05.2023 г.

В данной работе исследовалось влияние полного дейтерирования углеродного скелета этиленгликоля на образование продуктов его радиационно-индуцированных свободнорадикальных превращений в деаэрированных водных растворах при pH 7.00 ± 0.10 при мощности поглощенной дозы 0.064 ± 0.002 Гр/с. Установлено, что важную роль в образовании ацетальдегида играет цепной процесс фрагментации углеродцентрированных радикалов этиленгликоля ($\cdot\text{CH}(\text{OH})\text{CH}_2\text{OH}$). Замещение атомов протия, находящихся при атомах углерода, на дейтерий снижает радиационно-химический выход ацетальдегида в 8 раз в 1 М водных растворах диолов. Результаты исследования указывают на то, что использование дейтерообмена по углеродному скелету органических молекул является перспективным направлением для увеличения их стойкости к радиационно-индуцированным процессам свободнорадикальной фрагментации.

Ключевые слова: радиолиз, этиленгликоль, радикал, свободнорадикальная фрагментация, изотопный H-D эффект

DOI: 10.31857/S0023119323050133, **EDN:** LWDXEF

ВВЕДЕНИЕ

Воздействие ионизирующего излучения на живые организмы, помимо прямого эффекта, приводит к гораздо более значительному косвенному повреждению, вызванному продуктами радиолиза клеточной воды [1]. Наибольший биологический эффект вызывают повреждения ДНК и клеточных мембран, в состав которых входят липиды (фосфо-, глико-, сфинго-, холестерин), углеводы и белки [2, 3]. Помимо внешнего воздействия свободнорадикальные реакции могут инициироваться эндогенно за счет выработки активных форм кислорода. Независимо от источника инициирования свободнорадикальных реакций, после превышения количества образующихся радикальных частиц над возможными биологической системы их нейтрализовать или нивелировать производимые ими повреждения, в клетках развивается окислительный стресс. Данное состояние является патологическим и ассоциировано с апоптозом

(клеточная гибель), а также развитием ряда серьезных заболеваний [4].

Для повышения устойчивости биомолекул к процессам свободнорадикальных превращений сравнительно новым подходом является введение атомов дейтерия в углеродный скелет молекулы. Поскольку связи C–D прочнее связей C–H, то их разрыв требует большей энергии активации, следовательно, замещение ядер протия на дейтерий в наиболее реакционноспособных участках биомолекул приведет к снижению скорости, и, как следствие, степени протекания свободнорадикальных процессов их повреждения. При этом электронная и пространственная структура молекулы не изменяется, что обеспечивает хорошую биосовместимость. Данный подход хорошо зарекомендовал себя при введении атомов дейтерия в бисаллильные положения ненасыщенных липидов, в результате чего наблюдалось существенное ингибирование процесса перекисного окисления ли-

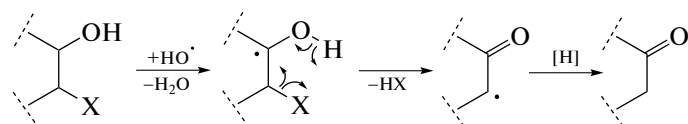


Рис. 1. Общая схема свободнорадикальной фрагментации α -гидроксилсодержащих углеродцентрированных радикалов.

пидов, протекающего по остаткам полиненасыщенных жирных кислот [5–7].

В условиях нормоксии основным радикальным процессом повреждения мембран считается перекисное окисление липидов [4–7]. Однако уровень кислорода в клетках и тканях варьируется в широких пределах [8], поэтому в случае гипоксии вклад перекисного окисления липидов существенно снижается, а роль других процессов свободнорадикального повреждения липидов, в частности фрагментации углеродцентрированных органических радикалов, растет.

Процессы фрагментации наиболее характерны для соединений, содержащих свободную гидроксильную группу по соседству с гидроксильной, амино-, фосфоэфирной, сложноэфирной и другими группами (рис. 1) [9]. Было показано, что в такого рода фрагментацию вступают различные биологически активные соединения, такие как: глицерофосфолипиды, сфинголипиды, лизофосфолипиды, гликолипиды, углеводы, аминокислоты и их производные [10–17].

Протекание такого рода реакций эффективно ингибируется кислородом либо низкомолекулярными окислителями [9, 10, 18–20]. О возможности использования дейтерообмена для замедления процессов фрагментации есть информация только в одной научной публикации [21]. На примере пропандиола-1,2 в ней было показано, что частичная модификация реакционноспособных по отношению к процессам фрагментации участков органической молекулы дейтерием приводит к их существенному замедлению.

Для установления эффективности дейтерообмена при ингибировании фрагментации гидроксилсодержащих углеродцентрированных радикалов диолов в текущей работе исследовались радиационно-индуцированные превращения этиленгликоля и его полностью дейтерированного по двум метиленовым звеньям производного в деаэрированных водных растворах при pH 7.0.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Для проведения исследования использовали этиленгликоль (ЭГ) х.ч., дополнительно очищенный методом вакуумной перегонки. Этан-1,2-диол-

d_4 (ЭГ- D_4) был синтезирован и очищен (чистота не менее 90%) в Лаборатории химии биоконъюгатов (ИФОХ НАН Беларуси). Спектр ^{13}C ЯМР синтезированного соединения был записан в CDCl_3 на приборе Bruker AC 500 с рабочей частотой 125 МГц.

Для синтеза этан-1,2-диола- d_4 к суспензии алюмодейтерида лития LiAlD_4 (2.8 г, 66 ммоль) в тетрагидрофуране (30 мл) при перемешивании и охлаждении на ледяной бане в течение 15 мин прикапывали раствор диэтилоксалата (4.5 г, 31 ммоль) в тетрагидрофуране (30 мл). Реакционную смесь кипятили при перемешивании 6 ч, после чего последовательно прикапывали при охлаждении и перемешивании воду (2.5 мл), 15% раствор NaOH (2.5 мл) и снова воду (7.5 мл). Через 30 мин осадок фильтровали и промывали тетрагидрофураном (10 × 20 мл). Растворитель медленно удаляли при атмосферном давлении в приборе, снабженном дефлегматором, после чего удаляли следы растворителя при пониженном давлении. Полученный продукт был дополнительно перегнан при атмосферном давлении для удаления возможных нелетучих неорганических примесей. Продукт был получен в виде бесцветной жидкости. Выход синтеза составил 54%. Спектр ^{13}C (125 МГц, D_2O , δ , м.д.): 61.7 (мультиплет). Спектр ЯМР ^{13}C содержал несколько сторонних сигналов соизмеримой интенсивности, что связано с крайне низкой интенсивностью сигнала атомов углерода целевого продукта.

Для приготовления растворов стандартов продуктов радиационно-химических превращений ЭГ и его дейтерированного производного использовали водный раствор формальдегида $\omega = 37\%$ (содержащий 10–15% метанола в качестве стабилизатора), гликолевый альдегид в виде димера не менее 98% чистоты, ацетальдегид 99.0% чистоты фирмы Sigma-Aldrich. Для приготовления буферных растворов использовали дигидрофосфат калия 99.0% чистоты фирмы Sigma Life Sciences и гидрофосфат натрия 99.0% чистоты фирмы Sigma-Aldrich. Для дериватизации образцов для ВЭЖХ-анализа использовали 2,4-динитрофенилгидразин (ДНФГ) фирмы Sigma-Aldrich, который предварительно подвергали перекристаллизации из ацетонитрила.

Для приготовления 1 М растворов исследуемые вещества растворяли в 50 мМ фосфатном буфере (рН 7.00 ± 0.10). Водные растворы исследуемых веществ, а также стандартные растворы готовили весовым методом и методом последовательного разбавления. Величину рН измеряли на рН-метре HannaHI 9321.

Исследуемые растворы помещали в стеклянные ампулы. Стекло для ампул предварительно промывали хромовой смесью, водопроводной водой, дистиллятом, после чего высушивали в сушильном шкафу при температуре 120°C.

Продувку ампул с растворами исследуемых веществ и используемых реагентов для удаления кислорода проводили аргоном (объемная доля Ar не менее 99.993%) в течение 60 мин, после чего их запаивали.

Приготовленные растворы облучали на установке “Исследователь” (γ -излучение изотопа ^{60}Co) в Лаборатории радиационных воздействий НПЦ НАН Беларуси по материаловедению. Для определения мощности поглощенной дозы использовался дозиметр Фрикке ($G(\text{Fe}^{3+}) = 15.55$ ионов/100эВ). Мощность поглощенной дозы γ -установки составляла 0.064 ± 0.002 Гр/с, интервал поглощенных доз — 115–691 Гр.

Для анализа карбонильных продуктов радиационно-химических превращений этиленгликоля и его дейтерированного аналога использовали дериватизирующий раствор ДНФГ (0.0075 г ДНФГ, 1.55 мл 36% HCl, доведенный до 25 мл метанолом). Растворы исследуемых веществ после облучения смешивали с раствором ДНФГ в соотношении 1 : 3, флаконы оставляли для протекания реакции на 15 мин в темноте, после чего проводили хроматографический анализ.

Качественный и количественный анализ образующихся ацетальдегида, гликолевого альдегида и формальдегида проводили методом ВЭЖХ на хроматографе “Shimadzu VP series LC” (Япония) с использованием детектора SPD-10A VP UV–Vis при длине волны 366 нм. Условия хроматографирования: колонка LiChrospher 100 RP-18e column (длина — 250 мм, внутренний диаметр — 4.6 мм, размер зерен — 5 мкм); элюент — метанол/вода (60/40 об./об. для анализа ЭГ и 55/45 об./об. для анализа ЭГ- D_4); скорость подачи элюента 1 мл/мин; температура термостата составляла 25°C; объем вводимой пробы — 5 мкл. Ввод проб осуществлялся вручную в инжектор с использованием шприца (Hamilton Company, 25 мкл).

Для исключения влияния карбонильных примесей в ЭГ- D_4 и сравнения результатов качественный и количественный анализ образующегося ацетальдегида параллельно проводили методом газовой хроматографии на хроматографе “Shimadzu GC-2010” (Япония). Условия хроматографирования: колонка RT-Q-BOND (длина — 30 м, внутренний

диаметр — 0.32 мм, толщина пленки неподвижной фазы — 10 мкм); начальная температура 40°C, скорость подъема до 210°C — 8°C/мин, температура инжектора — 200°C; температура детектора — 220°C; поток газа-носителя (He) — 30 мл/мин; детектор — пламенно-ионизационный; объем задаваемой пробы — 1 мкл.

Радиационно-химические выходы образования продуктов реакций (G , молекула/100эВ) рассчитывали на линейных участках зависимостей концентраций веществ от поглощенной дозы. Статистическую обработку результатов эксперимента и расчет значения ошибки определения радиационно-химических выходов проводили в программе Origin 8.1 Pro методом наименьших квадратов с использованием коэффициента достоверной вероятности 0.95.

Для расчета величин радиационно-химических выходов использовали результаты не менее трех независимых экспериментов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В рамках работы были изучены радиационно-индуцированные свободнорадикальные превращения этиленгликоля и его дейтерированного аналога в деаэрированных водных растворах и получены зависимости накопления основных продуктов превращения ЭГ и ЭГ- D_4 от поглощенной дозы, на основе которых были рассчитаны радиационно-химические выходы их образования (табл. 1). Из данных табл. 1 следует, что основным типом радиолитических превращений изучаемых веществ является их дегидратация. Кроме этого происходит образование продуктов деструкции исходных веществ, сопровождающейся разрывом C—C-связи.

Исходя из данных ранее проведенных исследований (табл. 2 и 3, [9]) с ростом концентрации этиленгликоля и уменьшением мощности дозы ионизирующего излучения, действующего на его водные растворы, наблюдается увеличение радиационно-химического выхода продукта дегидратации — ацетальдегида, вплоть до значений, соответствующих короткоцепным радиационно-химическим выходам. Величина радиационно-химического выхода ацетальдегида (см. табл. 1), рассчитанная для эксперимента с недейтерированным ЭГ при более низкой мощности дозы ионизирующего излучения (0.064 Гр/с), также указывает на развитие короткоцепных процессов, причем радиационно-химический выход дегидратации закономерно оказался больше, чем в экспериментах с более высокой мощностью дозы при близких концентрациях.

При переходе к рассмотрению результатов радиоллиза 1 М водного раствора ЭГ- D_4 наблюдалось уменьшение радиационно-химического выхода ацетальдегида по сравнению с недейтерирован-

Таблица 1. Радиационно-химические выходы продуктов радиолиза 1 моль/л растворов этиленгликоля и его дейтерированного производного (мощность поглощенной дозы составляла 0.064 Гр/с)

Продукты радиолиза	Радиационно-химический выход (G), молекула/100эВ	
	этиленгликоль	этан-1,2-диол-d ₄
Ацетальдегид	7.86 ± 0.40	0.98 ± 0.43
Гликолевый альдегид	0.23 ± 0.04	0.24 ± 0.05
Формальдегид	0.48 ± 0.06	0.73 ± 0.13

ным ЭГ примерно в 8 раз, что свидетельствует об ингибировании радиационно-индуцированного свободнорадикального короткоцепного процесса его образования при замещении всех атомов водорода у атомов углерода на дейтерий. Для объяснения наблюдаемого кинетического изотопного эффекта рассмотрим механизм радиационно-химических превращений ЭГ.

При радиолизе водных растворов ЭГ под действием продуктов радиолиза воды — ОН- и Н-радикалов — происходит образование С-центрированных радикалов **C1** (рис. 2), дальнейшие превращения которых приводят к накоплению продукта диспропорционирования — гликолевого альдегида — либо образованию формилметильных радикалов **C2** в результате свободнорадикальной дегидратации. Радикалы **C2**, в свою очередь, могут подвергаться рекомбинации, давая янтарный альдегид, а также отрывать атом водорода от другой органической молекулы с образованием ацетальдегида.

При отрыве радикалом **C2** атома водорода от исходной молекулы этиленгликоля образуется радикал **C1**, таким образом происходит продолжение цепи, чем и обусловлено образование ацетальдегида с высокими радиационно-химическими выходами (рис. 3, табл. 1–3). С уменьшением мощности дозы количество реакционноспособных радикалов, образующихся в единицу времени, сокращается, снижая вероятность их рекомбинации и, следовательно, обрыва цепи. Последнее обу-

словливает отличия в величинах радиационно-химического выхода ацетальдегида, установленных в нашей работе и ранее опубликованных [9].

В случае дейтерированного ЭГ, для реализации цепного процесса дегидратации С-центрированным радикалам **CD2** необходимо разрывать связь С–D, которая является более прочной по сравнению со связью С–H [22] (рис. 4). По-видимому, отличия в энергии этих связей, вследствие кинетического изотопного эффекта, приводят к ингибированию короткоцепного процесса дегидратации, представленного на рис. 3. Радикалы **CD1** образуются преимущественно в результате реакции ЭГ-D₄ с ОН-радикалами, поэтому радиационно-химический выход продуктов дегидратации и диспропорционирования **CD1** находится в пределах величины первичного радиационно-химического выхода ОН-радикалов.

Другими продуктами радиационно-химических превращений ЭГ являются гликолевый альдегид и формальдегид. Радиационно-химические выходы гликолевого альдегида в растворах ЭГ и ЭГ-D₄ равны в пределах погрешности, что свидетельствует об отсутствии влияния замещения атома водорода на дейтерий в углеродном скелете на диспропорционирование радикалов **C1** и **CD1**.

При радиолизе растворов ЭГ-D₄ наблюдается увеличение радиационно-химического выхода формальдегида почти в 1.5 раза по сравнению с раство-

Таблица 2. Радиационно-химические выходы продукта дегидратации этиленгликоля (ацетальдегида) при радиолизе его водных растворов (мощность поглощенной дозы составляла 0.177 Гр/с) [9]

Концентрация НОСН ₂ СН ₂ ОН, моль/дм ³	G, молекул/100 эВ
	СН ₃ СНО
10 ⁻³	0.75
10 ⁻¹	1.0
1	3.5

Таблица 3. Влияние мощности дозы на образование продукта дегидратации (ацетальдегида) при радиолизе 1.2 моль/дм³ водных нейтральных деаэрированных растворов этиленгликоля [9]

Мощность поглощенной дозы, Гр/с	G продуктов, молекул/100 эВ
	СН ₃ СНО
0.16	5.6
0.64	3.3
4 × 10 ⁷	0.23

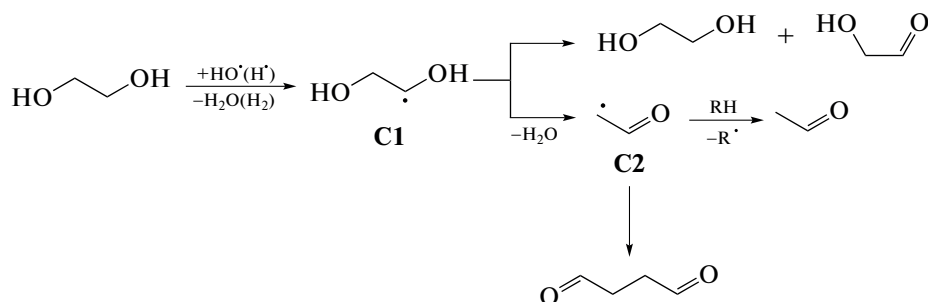


Рис. 2. Схема радиационно-химических превращений углеродцентрированных радикалов этиленгликоля.

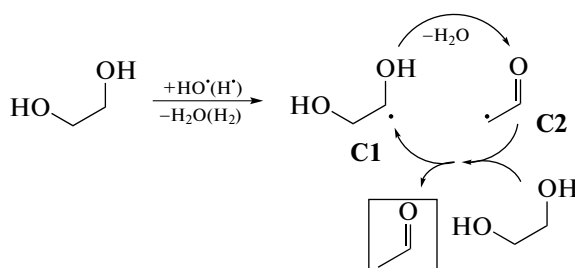


Рис. 3. Цепной процесс дегидратации этиленгликоля.

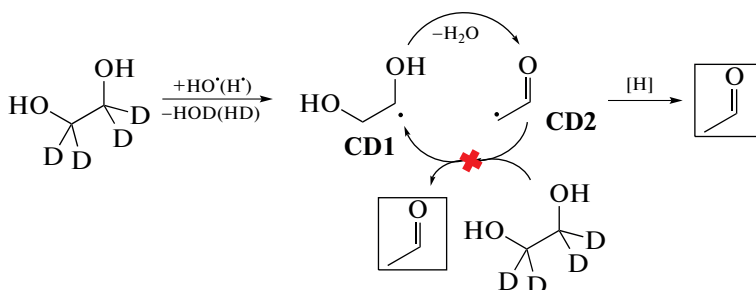


Рис. 4. Ингибирование цепного процесса дегидратации этан-1,2-диола-d₄.

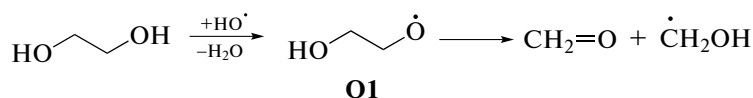


Рис. 5. Свободнорадикальная деструкция кислородцентрированных радикалов этиленгликоля.

рами ЭГ. Формальдегид является продуктом деструкции О-центрированных радикалов (**O1**), которые образуются в результате реакции исследуемых диолов с ОН-радикалами (рис. 5).

Образование и деструкция радикалов **O1** происходит без участия связей С–Н(С–D) [9]. Поэтому, отличие в радиационно-химических выходах формальдегида в случае ЭГ и ЭГ-D₄ может быть связано с затруднением отрыва дейтерия от

исходных молекул ЭГ-D₄ кислородцентрированным радикалом **O1** при его межмолекулярной трансформации (рис. 6) в углеродцентрированные радикалы **C1** до реализации деструкции.

В результате, большая доля радикалов **O1**, образовавшихся из ЭГ-D₄, успевает деструктировать с образованием дополнительного количества формальдегида, наблюдаемого в эксперименте (табл. 1).

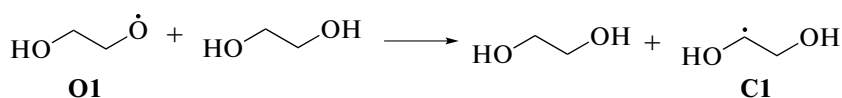


Рис. 6. Межмолекулярная трансформация радикалов O1 в C1.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Результаты выполненной работы подтверждают установленную ранее зависимость радиационно-химической дегидратации этиленгликоля от мощности поглощенной его водными растворами дозы: показано протекание короткоцепного процесса фрагментации этиленгликоля с образованием ацетальдегида, радиационно-химический выход которого возрастает с уменьшением мощности дозы ионизирующего излучения. Ключевой стадией продолжения короткоцепного процесса дегидратации является отрыв атома водорода от C—H-связей исходной молекулы этиленгликоля формилметильными радикалами (C2), сопровождающийся образованием ацетальдегида с короткоцепными радиационно-химическими выходами.

Было показано, что дейтерирование углеродного скелета этиленгликоля ингибирует образование ацетальдегида, снижая его радиационно-химический выход почти в 8 раз. Неспособность формилметильных радикалов (C2) разрывать связь C—D в дейтерированном этиленгликоле препятствует реализации короткоцепного процесса его дегидратации. Дейтерирование углеродного скелета этиленгликоля способствует увеличению радиационно-химического выхода формальдегида, продукта деструкции кислородцентрированных радикалов, за счет ингибирования межмолекулярной трансформации между O- и C-центрированными радикалами диола.

Таким образом, дейтерирование углеродного скелета молекулы этиленгликоля повышает ее устойчивость по отношению к радиационно-индуцированным свободнорадикальным превращениям. Результаты работы указывают на перспективность замещения атомов протия на дейтерий в углеродных скелетах полярных гидроксилсодержащих органических молекул для получения устойчивых к свободнорадикальным, в том числе радиационно-индуцированным, превращениям производных, которые могут найти применение в промышленности и медицине.

ИСТОЧНИК ФИНАНСИРОВАНИЯ

Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта Белорусского республиканского фонда фундаментальных исследований и Министерства образования Республики Беларусь №X22MB-022.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Azzam E.I., Jay-Gerin J.-P., Pain D. // Cancer Lett. 2012. V. 327. P. 48.
2. Benderitter M., Vincent-Genod L., Pouget J.P. et al. // Radiat. Res. 2003. V. 159. P. 471.
3. Lehninger A.L., Nelson D.L., Cox M.M. Lehninger principles of biochemistry, 6th ed. Freeman W.H. New York, 2012.
4. Halliwell B., Gutteridge J.M.C. Free Radicals in Biology and Medicine. Oxford: Oxford University Press, 2015.
5. Moskalenko I., Tikhonov I., Pliss E. et al. // Russian Journal of Physical Chemistry B. 2018. V. 12. № 6. P. 987.
6. Andreyev A.Y., Tsui H.S., Milne G.L. et al. // Free Radical Biology and Medicine. 2015. V. 82. P. 63.
7. Firsov A.M., Fomich M.A., Bekish A.V. et al. // The FEBS Journal. 2019. V. 286. № 11. P. 2099.
8. Carreau A., Hafny-Rahbi B.E., Matejuk A. et al. // J. Cell. Mol. Med. 2011. V. 15. P. 1239.
9. Петряев Е.П., Шадыро О.И. Радиационная химия бифункциональных органических соединений. Минск: Университетское, 1986.
10. Edimecheva I.P., Kisel R.M., Shadyro O.I. et al. // J. Radiat. Res. 2005. V. 46. P. 319.
11. Edimecheva I.P., Kisel M.A., Shadyro O.I. et al. // Int. J. Radiat. Biol. 1997. V. 71. P. 555.
12. Shadyro O., Lisovskaya A. // Chem. Phys. Lipids. 2019. V. 221. P. 176.
13. Shadyro O., Samovich S., Edimecheva I. // Free Radic. Biol. Med. 2019. V. 144. P. 6.
14. Shadyro O., Yurkova I., Kisel M. et al. // Free Radic. Biol. Med. 2004. V. 36. P. 1612.
15. Shadyro O.I., Yurkova I.L., Kisel M.A. // Int. J. Radiat. Biol. 2002. V. 78. P. 211.
16. Shadyro O.I., Yurkova I.L., Kisel M.A. et al. // Int. J. Radiat. Biol. 2004. V. 80. P. 239.
17. Sladkova A.A., Sosnovskaya A.A., Edimecheva I.P. et al. // Radiat. Phys. Chem. 2012. V. 81. P. 1896.
18. Ksendzova G.A., Sorokin V.L., Edimecheva I.P. et al. // Free Radical Research. 2004. V. 38. № 11. P. 1183.
19. Shadyro O.I., Glushonok G.K., Glushonok T.G. et al. // Free Radical Research. 2002. V. 36. P. 859.
20. Потоцкая Т.В., Шадыро О.И., Юркова И.Л. // Химия высоких энергий. 2004. Т. 38. С. 4.
21. Nepachalovich P.S., Shadyro O.I., Bekish A.V. et al. // Free Radical Research. 2020. V. 54. № 10. P. 732.
22. Термические константы веществ. Справочник / Под редакцией акад. В.П. Глушко, В.А. Медведева и др. Вып. 4. М.: ВИНТИ, 1970.