

ВЛИЯНИЕ Н-D ЭФФЕКТА НА РАДИАЦИОННО-ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ ЭТИЛЕНГЛИКОЛЯ В ДЕАЭРИРОВАННЫХ ВОДНЫХ РАСТВОРАХ ПРИ PH 7

**А. И. Давыденко, О. В. Урбанович, Е. С. Мельничук,
А. Д. Шишпор, В. А. Карпович, Е. С. Карасевич**

*Белорусский государственный университет, г. Минск;
asyacm251@gmail.com, olga.urbanovich@gmail.com,
melnichuk.lisa@gmail.com, annshyshpar2@gmail.com,
karpovich_2002@list.ru, lizagram.2003@mail.ru;
науч. рук. – Свердлов Р.Л.: БГУ, к. хим. наук., доц.*

Для недеитерированного этиленгликоля показано образование ацетальдегида с короткоцепными выходами (концентрация диола 1 моль/л). При замещении Н на D в молекуле этиленгликоля для раствора 1,1-дидейтероэтандиола-1,2 наблюдалось уменьшение радиационно-химического выхода ацетальдегида примерно в 5,7 раз, а для раствора тетрадейтероэтандиола-1,2 – примерно в 8,0 раз. Таким образом, показано, что дейтерирование приводит к ингибированию короткоцепного процесса дегидратации этиленгликоля

Ключевые слова: радиолиз, радиопротекторы, свободнорадикальная фрагментация, дейтерообмен, этиленгликоль.

ВВЕДЕНИЕ

Воздействие ионизирующего излучения (ИИ) на живые организмы инициирует свободнорадикальные процессы, которые, так или иначе, затрагивают важнейшие компоненты любых биологических систем. Доказано, что воздействие ИИ может приводить к гиперпродукции активных форм кислорода и азота, что способствует развитию окислительного стресса и повреждению клеток и тканей организма [1]. Одним из новых направлений в сфере производства радиопротекторных препаратов, повышающих устойчивость организма к свободнорадикальным превращениям, является создание биомолекул, “укреплённых” тяжёлыми изотопами ^{13}C и ^2D . Например, введение дейтерия в полиненасыщенные жирные кислоты позволяет ингибировать цепной процесс перекисного окисления липидов. Причём, установлено, что для достижения этого эффекта нет необходимости полностью замещать дейтерированными производными все остатки ненасыщенных жирных кислот в организме [2, 3].

Настоящая работа посвящена изучению возможности использования Н-D дейтерообмена для получения устойчивых по отношению к

индуцируемым ИИ свободнорадикальным реакциям фрагментации и деструкции гидроксилсодержащих участков биомолекул.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Предметом исследования в настоящей работе являлись радиационно-инициируемые превращения этиленгликоля (ЭГ), 1,1-дидейтероэтандиола-1,2 (ЭГ-D2), тетрадейтероэтандиола-1,2 (ЭГ-D4) (рис. 1) в водных деаэрированных растворах. Для проведения исследования использовали этиленгликоль марки х.ч., предварительно очищенный методом перегонки под вакуумом, а его дейтерированные производные были синтезированы и очищены (чистота не менее 90%) в Лаборатории химии биоконъюгатов (ИФОХ НАН Беларуси).

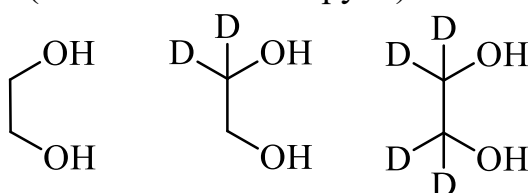


Рис. 1. Структурные формулы использованных соединений

Для приготовления водных растворов исследуемых соединений и используемых реактивов применялась деионизованная вода (Heal Force Smart Mini Water purification system, Shanghai, China) (электропроводность воды 0,055 мкСм/см). Для приготовления растворов стандартов использовали водный раствор формальдегида $\omega=37\%$ (содержащий 10-15% метанола в качестве стабилизатора), гликолевый альдегид в виде димера чистотой не менее 98%, высокочистый (не менее 99,5%) ацетальдегид (Sigma-Aldrich). Для приготовления буферного раствора (50 мМ фосфатный буфер) использовали KH_2PO_4 99,0% чистоты (Sigma Life Sciences) и Na_2HPO_4 99,0% чистоты (Sigma-Aldrich). Для дериватизации образцов для ВЭЖХ-анализа использовали 2,4-динитрофенилгидразин (ДНФГ) (Sigma-Aldrich), который предварительно подвергали перекристаллизации из ацетонитрила [4]. Растворы исследуемых веществ помещали в ампулы, и после продувки аргоном в течение часа ампулы запаивали.

Приготовленные растворы облучали на установке “Исследователь” (γ -излучение изотопа ^{60}Co). Мощность поглощенной дозы γ -установки составляла $0,065 \pm 0,005$ Гр/с, интервал поглощенных доз – 117–702 Гр.

Для анализа карбонильных продуктов радиационно-химических превращений использовали дериватирующий раствор ДНФГ (0,0072 г ДНФГ, 1,55 мл 36% HCl , до 25 мл разбавляли метанолом).

Качественный и количественный анализ образующихся в результате радиационно-химических превращений продуктов проводили методом

жидкостной хроматографии 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 зёрен – 5 мкм); элюент – метанол/вода (60/40 об./об. для анализа ЭГ и 65/35 об./об. для анализа его дейтерированных производных); скорость подачи элюента 1 мл/мин; анализ проводили при комнатной температуре (около 24°C); объём вводимой пробы – 5 мкл. Ввод пробы осуществлялся вручную в инжектор с использованием шприца Hamilton (Hamilton Company, объём шприца 25 мкл).

Радиационно-химические (G, молекула/100эВ) выходы образования продуктов реакций рассчитывали на линейных участках зависимости концентраций веществ от поглощенной дозы.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Свободнорадикальные превращения веществ в разбавленных водных растворах при γ -облучении инициируются продуктами радиолиза воды, наиболее реакционноспособными из которых являются ОН-радикалы. В ходе работы было установлено •ОН-индуцированное накопление таких конечных продуктов превращений этиленгликоля, 1,1-дидейтероэтандиола-1,2 и тетрадейтероэтандиола-1,2, как ацетальдегид, формальдегид и гликолевый альдегид. В таблице приведены полученные в ходе эксперимента радиационно-химические выходы продуктов превращения исходных молекул.

Радиационно-химические выходы продуктов радиолиза ЭГ, ЭГ-D2 и ЭГ-D4 в деаэрированных водных растворах при pH 7

Продукт радиолиза	G, мол-ла/100 эВ		
	ЭГ	ЭГ-D2	ЭГ-D4
Ацетальдегид	7,86±0,40	1,37±0,28	0,98±0,43
Формальдегид	0,48±0,06	0,72±0,16	0,73±0,13
Гликолевый альдегид	0,23±0,04	0,34±0,08	0,24±0,05

При радиолизе ЭГ [5] первоначально образуется углерод-центрированный радикал (I), дегидратация которого приводит к образованию ацетальдегида, а диспропорционирование – к образованию гликолевого альдегида (рис. 2).

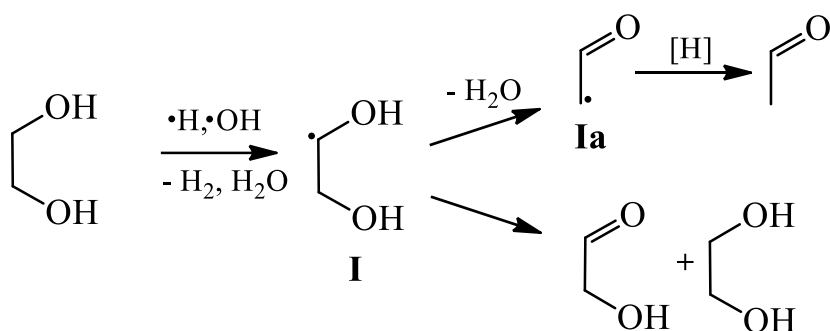


Рис. 2. Механизм образования продуктов окисления и дегидратации этиленгликоля

При замещении атома водорода на дейтерий у атомов углеродного скелета этиленгликоля радикал **I** образуется путём расщепления связи C—D, которая имеет бóльшую энергию, чем связь C—H. Кроме того, радикал **Ia**, образующийся после дегидратации радикала **I**, может отрывать атом водорода от исходной молекулы этиленгликоля, чем объясняется высокий короткоцепной выход ацетальдегида. На этой стадии проявляется селективность отрыва атома водорода от дейтерированного и не дейтерированного атома углерода: величина радиационно-химического выхода ацетальдегида, рассчитанная для эксперимента с недейтерированным этиленгликолем, указывает на короткоцепной механизм его образования, так как его выход приблизительно в 2,4 раза превосходит суммарный радиационно-химический выход OH- и H-радикалов (суммарно ~3,25 частиц/100эВ [5]), которые являются инициаторами свободнорадикальных реакций органических молекул в условиях эксперимента. Уменьшение G ацетальдегида до значений существенно меньших, чем 3,25 частиц/100эВ, свидетельствует об ингибировании радиационно-индуцируемого свободнорадикального процесса его образования при замещении как двух атомов водорода на дейтерий у одного атома C, так и при полном дейтерировании углеродного скелета этиленгликоля. В результате, для раствора 1,1-дидейтероэтандиола-1,2 наблюдается уменьшение радиационно-химического выхода ацетальдегида по сравнению с ЭГ примерно в 5,7 раз, а для раствора тетрадейтероэтандиола-1,2 – примерно в 8,0 раз.

Формальдегид образуется [5] путём деструкции кислородцентрированных радикалов **II** (рис. 3). Накопление продуктов деструкции происходит медленнее, чем продуктов дегидратации. Это связано с меньшей вероятностью образования неустойчивых кислородцентрированных радикалов при взаимодействии исходных молекул с OH-радикалами и возможности их межмолекулярной трансформации в углеродцентрированные радикалы **I** до реализации деструкции.

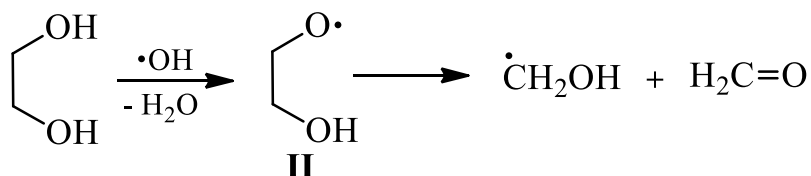


Рис. 3. Механизм образования продуктов деструкции этиленгликоля

Таким образом, введение в углеродный скелет молекулы этиленгликоля атомов дейтерия приводит к заметному ингибированию свободнорадикальных реакций фрагментации 1,1-дидейтероэтандиола-1,2 и в ещё большей степени тетрадейтероэтандиола-1,2 по сравнению с их протиевым аналогом.

Библиографические ссылки

1. Филимонов, М. М. Радиобиология/ М. М. Филимонов, Д. А. Новиков. – Минск: БГУ, 2014.
2. Пат. 9616042 США. Isotopically modified compounds and their use as food supplements/ *Shchepinov*; Retrotope, Inc. 2017.
3. Пат. 2701695 США. Neurodegenerative disorders and muscles diseases implicating PUFAs / *Shchepinov*; Retrotope, Inc. 2019.
4. *Armarego, W.L.F.* Purification of Laboratory Chemicals (Sixth Edition) / *W.L.F. Armarego, C. Chai*. – U.S.A.: Butterworth-Heinemann, 2009.
5. *Петряев, Е. П.* Радиационная химия бифункциональных органических соединений/ *Е. П. Петряев, О. И. Шадыро*. – Минск: Университетское, 1986.