

## ФОТОРАЗЛОЖЕНИЕ 7,7'-ДИМЕТИЛ-7-германорборнадиена в низкотемпературных матрицах

Хотя подобные опыты были выполнены для  $\text{Me}_2\text{Ge}$ : и  $\text{Me}_4\text{Ge}_2$ . В работе [5] нет данных об эволюции спектра.

В стационарных опытах в низкотемпературной матрице  $\text{Me}_2\text{Ge}$ : может регистрироваться только в основном синглетном спиновом состоянии. Следовательно, можно предположить, что  $\text{Me}_2\text{Ge}$ : в состоянии  $S_0$  соответствует полоса поглощения с максимумом 430 нм и коэффициентом экстинкции  $2700 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ .

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Молдавер Т.И. в кн. Популярная библиотека химических элементов, под ред. И. В. Петрянов-Соколов – Наука, Москва, 1983. – 416.
2. Лукевиц Э.Я., Гар Т.К., Игнатович Л.М., Миронов В.Ф. Биологическая активность соединений германия. – Зинатне, Рига, 1990. – 191с.
3. Neumann W.P. Germylenes and Stannylenes // Chem. Rev. 1991. Vol. 91. P. 311-334.
4. Колесников С.П., Егоров М.П., Дворников А.С., Кузьмин В.А., Нефёдов О.М. Фотохимическое разложение 7,7'-диметил-7-германорборнадиена в жидкой фазе и углеводородных матрицах. Первое спектрофотометрическое обнаружение диметилгермилена в растворе и исследование кинетики его реакций методом импульсного фотолиза // Металлоорган. Химия 1989. Т. 2. № 4. С. 799-805.
5. Mochida K., Tokura S., and Murata S. Absorption and emission of germylenes (germanediyls); their complexation // J. Chem. Soc., Chem. Commun. 1992. P. 250-251.
6. Ando W., Itoh H., and Tsumuraya T. Electronic Absorption Spectra of Diorganogermylenes in Heteroatom-Containing Substrates Matrices: Formation of Diorganogermylene Complexes with Heteroatom-Containing Substrates // Organometallics 1989. Vol. 8. P. 2759-2766.
7. Schriewer M., and Neumann W.P. Chemistry of heavy carbene analogs  $\text{R}_2\text{M}$  (M = Si, Ge, Sn). 8. Germylenes: singlets or triplets? [2 + 4] Cheletropic cycloadditions of dimethylgermylene and diiodogermylene to conjugated dienes // J. Am. Chem. Soc. 1983. Vol. 105. P. 897-901.
8. Görner H., Lehnig M., Weisbebeck M. Photoreaction of 7-Me<sub>2</sub>-germanorbornadiene to tetraphenylnaphthalene // J. Photochem. Photobiol., A 1996. Vol. 94. P. 157-162.
9. Королев В. В., Плюсин В. Ф., Бажин Н. М. Техника низкотемпературного фотохимического эксперимента // Журн. физ. химии 1975. Т. 49. № 9. С. 2440-2442.
10. Taraban M.B., Volkova O.S., Plyusnin V.F., Ivanov Yu.V., Leshina T.V., Egorov M.P., Nefedov O.M., Kayamori T., Mochida K. Photolysis of 7,8-digermabicyclo[2.2.2]octadiene. The investigation of the elementary stages by means of 1H CIDNP and laser pulse photolysis // J. Organomet. Chem. 2000. Vol. 601. P. 324-329.
11. Barrau J., Bean D.L., Welsh K.M., West R., and Michl J. Photochemistry of a Matrix-Isolated Geminal Diazide. Dimethylgermylene // Organometallics 1989. Vol. 8. P. 2606-2608.
12. Mochida K., and Kayamori T., Wakasa M., and Hayashi H., Egorov M. P. // Organometallics 2000. Vol. 19. P. 3379-3386.

## ГЕНЕРАЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ N-АЦЕТИЛ-4-АМИНОФЕНОКСИЛЬНОГО РАДИКАЛА МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОГО ИМПУЛЬСНОГО ФОТОЛИЗА

А.В. Литке, И.П. Поздняков, Е. Бундуки, В.Ф. Плюсин,  
В.П. Гривин, Н.М. Бажин

*Методом наносекундного лазерного импульсного фотолиза исследованы спектрально-кинетические свойства N-ацетил-4-аминофеноксильного радикала, предполагаемого метаболита широко используемого лекарственного средства - ацетаминофена. Определены следующие спектрально-кинетические характеристики данного радикала: коэффициент поглощения на 440 нм ( $(4,2 \pm 0,2) \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ), квантовый выход фотоионизации на 266 нм ( $\varphi = 0,03$ ), константы скорости рекомбинации ( $2k = (1,4 \pm 0,3) \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) и взаимодействия с супероксид-радикалом ( $k = (9 \pm 2) \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ).*

## ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время ацетаминофен (парацетамол, панадол, далее по тексту АА) входит в состав более десятка различных лекарственных препаратов в виде порошков, таблеток, сиропов, растворов, эликсиров и капсул. В терапевтических дозах АА практически безвреден но при передозировке или в результате длительного приёма может привести к некрозу почек и циррозу печени. Согласно предлагаемой в литературе схеме метаболизма, патологическое действие АА связано с его частичным окислением под действием цитохрома Р-450 и других ферментов-окислителей до N-ацетил-п-бензохинонимина (NAPQI), через образование активного интермедиата: N-ацетил-4-аминофеноксильного радикала (далее по тексту RO<sup>•</sup>) [1-4]. Около 5% АА выводится из организма в неизменном виде и при неполной очистке сточных вод может попасть в природные водоёмы и грунтовые воды [5].

В данной работе для генерирования радикала RO<sup>•</sup> и изучения его спектрально-кинетических свойств был использован метод лазерного импульсного фотолиза с наносекундным временным разрешением. В последующем планируется изучение взаимодействия радикала RO<sup>•</sup> с аминокислотами и антиоксидантами, присутствующими в организме. Полученная информация о кинетике и механизме реакций, протекающих при взаимодействии радикала RO<sup>•</sup> с различными субстратами позволит проверить предлагаемую в литературе схему метаболизма АА.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использована установка лазерного импульсного фотолиза с возбуждением Nd:YAG лазером LS-2137U производства ООО «Лотис ТИИ» (Беларусь-Япония) с длиной волны возбуждения 266 и 355 нм, длительностью импульса 5-7 нс, площадью засветки 0,03 см<sup>2</sup> и энергией в импульсе до 10 мДж, аналогичная описанной в [6]. Съёмка оптических спектров проводилась на спектрофотометре HP 8453 фирмы «Агилент». Для измерения pH образцов использовали pH-метр «Анион-4101».

АА (х.ч.) был очищен перекристаллизацией из этилового спирта. В качестве растворителя использовались бидистиллированная вода. Моногидрат Fe(ClO<sub>4</sub>)<sub>3</sub> (Aldrich), K<sub>3</sub>Fe(C<sub>2</sub>O<sub>4</sub>)<sub>3</sub> (х.ч.), HClO<sub>4</sub> (х.ч.) и NaOH (х.ч.) были использованы без дополнительной очистки.

28

## РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе для генерации и изучения спектрально-кинетических свойств радикала RO<sup>•</sup> использовалось два подхода:

1. Лазерный импульсный фотолиз (возбуждение на 355 нм) системы, содержащей АА и гидроксокомплекс FeOH<sup>2+</sup>.

2. Прямой фотолиз АА при возбуждении лазерным импульсом с длиной волны 266 нм.

Известно, что возбуждение комплекса FeOH<sup>2+</sup> в кислых растворах (pH~3) приводит к образованию гидроксильного (<sup>•</sup>OH) радикала ( $\phi^{355}(\text{OH}) \approx 0,07$ ) [7, 8]. Радикал <sup>•</sup>OH с высокой константой скорости  $\sim 10^{10} \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  атакует молекулу АА с образованием первичного дигидроксициклогексаденильного радикала R(OH)<sub>2</sub><sup>•</sup> (реакция 1), который далее в результате кислотно-катализируемого процесса отщепляет молекулу воды с образованием радикала RO<sup>•</sup> (реакция 2) [9].



Спектры промежуточного поглощения водного раствора содержащего АА и Fe(III) при pH = 2.8 через 0.2, 2 и 12 мкс после возбуждения приведены на рисунке 1.

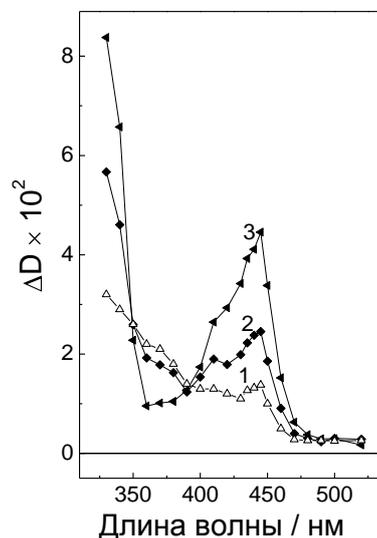


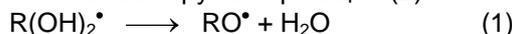
Рисунок 1. Лазерный импульсный фотолиз (355 нм) обескислороженного водного раствора, содержащего АА (10<sup>-3</sup> М) и FeOH<sup>2+</sup> (1,2×10<sup>-3</sup> М) при pH = 2,8. Спектры промежуточного поглощения через 0,2 (1), 2 (2) и 12 (3) мкс после лазерного импульса.

Спектр через 200 нс (рисунок 1, кривая 1) после возбуждения соответствует спектру первичного дигидроксициклогексаденильного радикала, который образовался в реакции

**ПОЛЗУНОВСКИЙ ВЕСТНИК № 3 2008**

## ГЕНЕРАЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ N-АЦЕТИЛ-4-АМИНОФЕНОКСИЛЬНОГО РАДИКАЛА МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОГО ИМПУЛЬСНОГО ФОТОЛИЗА

гидроксильного радикала с АА [9]. Первоначальный спектр примерно за 10 мкс трансформируется в спектр поглощения радикала  $RO^\bullet$  (рисунок 1, кривая 3), образующегося по кислотно-катализируемой реакции (2):



Из обработки экспериментальных кинетических кривых образования  $RO^\bullet$  (рисунок 2А) была определена константа скорости реакции (2), которая составила  $(2,3 \pm 0,2) \times 10^5 \text{ с}^{-1}$ . Полученное значение хорошо согласуется с литературными данными для незамещенного фенола [10].

Радикал  $RO^\bullet$  гибнет в реакции рекомбинации:



константа скорости которой была определена из угла наклона линейных анаморфоз на рисунке 2Б и составила  $(1,4 \pm 0,3) \times 10^9 \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$  что близко к литературному значению [9].

Прямой фотолиз (266 нм) обескислороженных водных растворов АА (рН = 6,5) приводит к формированию спектра промежуточного поглощения с максимумами на 320, 440 и 720 нм (рисунок 3А). При этом время жизни полос на 320 и 440 нм существенно превосходит время жизни полосы на 720 нм, что свидетельствует об образовании нескольких поглощающих продуктов.

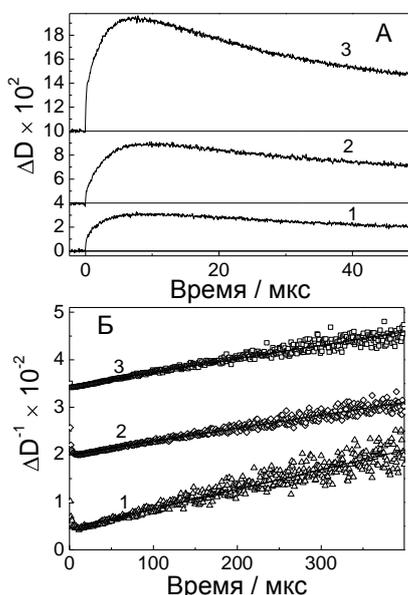


Рисунок 2. Лазерный импульсный фотолиз обескислороженного водного раствора, содержащего АА ( $10^{-3} \text{ М}$ ) и  $FeOH^{2+}$  ( $1,2 \times 10^{-3} \text{ М}$ ) (рН = 2,8). А - кинетические кривые изменения оптического поглощения на 440 нм. Б - зависимость  $\Delta D^{-1}$  от времени. Кривые (1-3) соответствуют разной начальной интенсивности возбуждающего импульса

Из работ по импульсному радиолузу воды известно, что широкая полоса поглощения с максимумом в области 700 нм принадлежит гидратированному электрону ( $e_{aq}^-$ ) [11], который быстро гибнет в реакции рекомбинации ( $2k = (1,1 \pm 0,14) \times 10^{10} \text{ М}^{-1}\text{с}^{-1}$  [12]). Образование гидратированного электрона является характерной особенностью фотохимии производных фенола, что подтверждено экспериментами по лазерному импульсному фотолизу гидрохинона.

Выход оптического поглощения на 720 и 440 нм линейно зависит от энергии лазерного импульса (рисунок 4А), что указывает на одноквантовый механизм процесса фотоионизации АА в водном растворе. Был определён квантовый выход фотоионизации АА на 266 нм, который составил  $\approx 0,03$ .

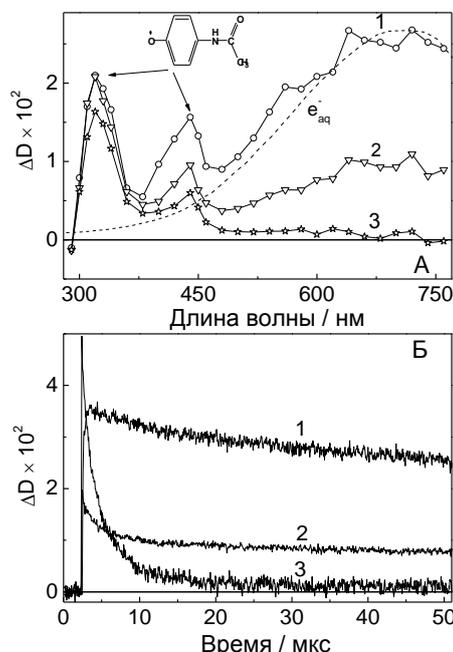


Рисунок 3. Лазерный импульсный фотолиз обескислороженных водных растворов АА ( $2 \times 10^{-4} \text{ М}$ , рН = 6,5). А - спектры промежуточного поглощения через 0,05 (1), 2,8 (2) и 48 (3) мкс после импульса. Пунктирной линией приведён спектр поглощения гидратированного электрона [11]. В - кинетические кривые на 320 (1), 440 (2) и 720 (3) нм

Линейная зависимость  $\Delta D^{440}$  от  $\Delta D^{720}$  (рисунок 4В) позволяет определить коэффициент поглощения радикала  $RO^\bullet$  на 440 нм ( $\epsilon^{440}$ ) по известному коэффициенту поглощения  $e_{aq}^-$  на 720 нм ( $\epsilon^{720} = 18500 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$  [11]). Он составил  $\epsilon^{440} = (4,2 \pm 0,2) \times 10^3 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$ , что довольно хорошо согласуется с литературными данными ( $\epsilon^{445} = 5900 \text{ М}^{-1}\text{см}^{-1}$  [9]).

В насыщенных кислородом ( $c \approx 1,25 \times 10^{-3}$  м [13]) растворах  $e_{aq}^-$  гибнет за время  $\sim 50$  нс в реакции с растворённым кислородом. Этот факт позволил изучить трансформацию спектра поглощения радикала  $RO^\bullet$  во времени и кинетику его гибели (рисунок 5).

Эффективная константа скорости реакции второго порядка, определённая из обработки кинетических кривых на 440 нм (рисунок 5Б) составила  $\approx 10^{10}$  что существенно превышает значение, полученное из экспериментов по лазерному импульсному фотолузу (355 нм) системы содержащей AA и  $FeOH^{2+}$ . Ко времени порядка 400 мкс после возбуждения промежуточное поглощение стремится к постоянному значению, что свидетельствует об образовании долгоживущей промежуточной частицы, отличной от  $RO^\bullet$  радикала, либо стабильных поглощающих продуктов реакций  $RO^\bullet$  радикалов. Этот вывод подтверждается и изменением формы спектра промежуточного поглощения на длинных временах (рисунок 5А, кривая 4).

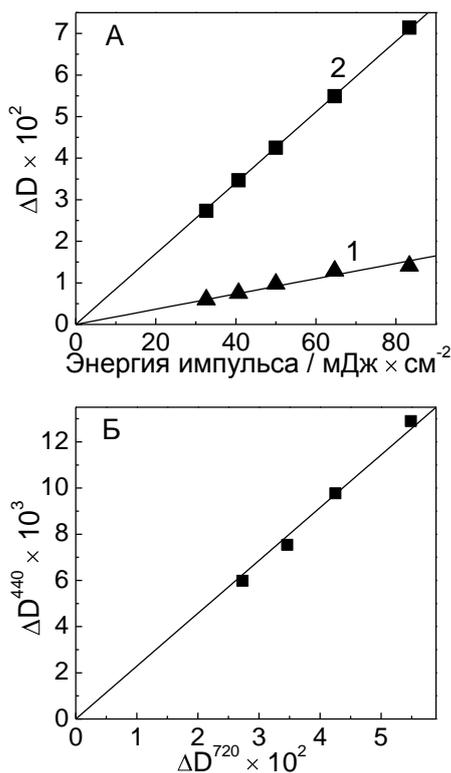


Рисунок 4. А – зависимость  $\Delta D^{440}$  (1) и  $\Delta D^{720}$  (2) от энергии лазерного импульса. Б – зависимость  $\Delta D^{440}$  от  $\Delta D^{720}$ . Величины  $\Delta D^{440}$  и  $\Delta D^{720}$  получены при импульсном фотолузе AA в растворах с концентрацией растворенного кислорода  $2,5 \times 10^{-4}$  М [13] и насыщенных аргонном, соответственно

Было обнаружено, что изменение начальной концентрации кислорода в растворе не влияет на кинетику гибели  $RO^\bullet$ , что хорошо согласуется с данными о малой реакционной способности феноксильных радикалов по отношению к кислороду [9, 14]. Увеличение эффективной константы скорости гибели  $RO^\bullet$  может быть объяснено протеканием дополнительной реакции радикала  $RO^\bullet$  и супероксид-радикала ( $O_2^{\bullet-}$ ), возникающим в результате взаимодействия растворённого кислорода и гидратированного электрона. Из литературы известно, что феноксильные радикалы способны с высокими константами скорости реагировать с радикалом  $O_2^{\bullet-}$  [14]:

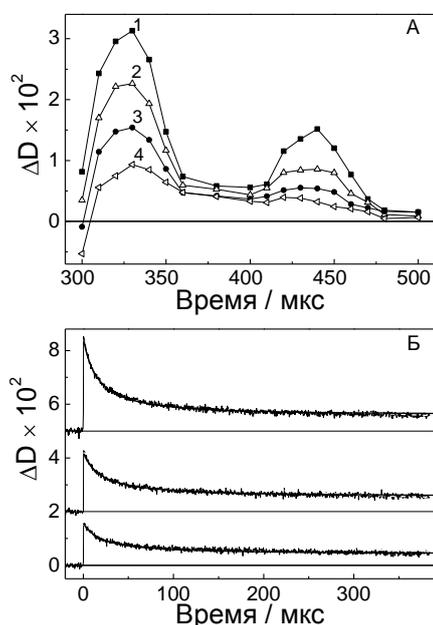


Рисунок 5. Лазерный импульсный фотолузу водных растворов AA ( $c(O_2) = 1,25 \times 10^{-3}$  М [13]). А – спектр промежуточного поглощения через 0,4 (1), 17 (2), 68 (3) и 380 (4) мкс после лазерного импульса. Б – экспериментальные кинетические кривые на 440 нм (варьирование интенсивности возбуждающего импульса). Сплошные гладкие кривые - моделирование экспериментальных кинетических кривых численным решением системы дифференциальных уравнений для набора реакций (3-5) с параметрами, указанными в тексте



Реакция 4 приводит либо к переносу электрона с восстановлением  $RO^\bullet$  радикала до аниона  $RO^-$  (4а), либо к присоединению супероксидного радикала с образованием соответствующего пероксид-аниона (4б) [15, 16]. В нашем случае, появление долгоживу-

## ГЕНЕРАЦИЯ И ИЗУЧЕНИЕ СВОЙСТВ N-АЦЕТИЛ-4-АМИНОФЕНОКСИЛЬНОГО РАДИКАЛА МЕТОДОМ ЛАЗЕРНОГО ИМПУЛЬСНОГО ФОТОЛИЗА

щего промежуточного поглощения свидетельствует об преимущественном протекании реакции (4б), так как реакция (4а) должна приводить к образованию исходного соединения (после протонирования аниона RO<sup>-</sup>), не поглощающего существенно при  $\lambda > 300$  нм. Таким образом, промежуточное поглощение на временах длиннее 400 мкс (рисунок 5А, кривая 4) может быть связано с образованием пероксид-аниона ROO<sub>2</sub><sup>-</sup>. Помимо реакции (4б) супероксидный радикал может участвовать в реакции рекомбинации с константой скорости  $k_6 = 1 \times 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ :



Для определения константы скорости реакции (4б) и эффективного коэффициента поглощения пероксид-аниона ROO<sub>2</sub><sup>-</sup> ( $\epsilon_p$ ) экспериментальные кинетические кривые на 440 нм при разной начальной концентрации RO<sup>•</sup> моделировали численным решением системы дифференциальных уравнений для набора реакций (3-5) методом Рунге-Кутты 4-го порядка (рисунок 5Б, гладкие сплошные кривые). В качестве фиксированных параметров были использованы коэффициент поглощения RO<sup>•</sup> на 440 нм ( $\epsilon^{440} = 4,2 \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ) и величины констант скорости реакций (3) ( $2k_3 = 1,4 \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) и (5) ( $k_5 = 10^8 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ). Наилучшее согласие расчетных и экспериментальных кривых было получено при значении варьируемых параметров  $k_{4б}$  и  $\epsilon_p$  равных  $(9 \pm 2) \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$  и  $(1,0 \pm 0,2) \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ , соответственно. Следует отметить, что значение  $k_{4б}$  довольно хорошо согласуется с известными из литературы константами скоростей взаимодействия супероксидного и фенокисильных радикалов [14].

### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

N-ацетил-4-аминофеноксильный радикал, предполагаемый метаболит широко используемого лекарственного средства - ацетаминофена, был получен и исследован методом лазерного импульсного фотолиза. Определен ряд важных спектрально-кинетических параметров данной частицы: коэффициент поглощения на 440 нм ( $(4,2 \pm 0,2) \times 10^3 \text{ M}^{-1}\text{cm}^{-1}$ ), квантовый выход при фотоионизации АА на 266 нм ( $\phi = 0,03$ ), константы скорости рекомбинации ( $2k = (1,4 \pm 0,3) \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ) и реакции с супероксид-радикалом ( $k = (9 \pm 2) \times 10^9 \text{ M}^{-1}\text{s}^{-1}$ ). Полученная информация будет использована в дальнейшем при изучении взаимодействия N-ацетил-4-аминофеноксильного радикала с аминокис-

лотами и антиоксидантами, что позволит проверить предлагаемую в литературе схему метаболизма ацетаминофена.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований РФФИ (гранты № 06-03-32110, 05-03-39007-ГФЕН, 08-03-90102-Мол, 08-03-00313, 08-03-90425-Укр) и Программы комплексных интеграционных проектов СО РАН-2006 (№ 4.16 и и 77).

### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Claassen C.D. // Toxicology. The basic Science of poisons. New York-Chicago-Toronto-London. Sixth Edition. 2001. P. 1236.
2. Mason R.P., Fischer V. // Fed. Proc. 1986. V. 45. P. 2493.
3. Potter D., Hinson J. // J. Biol. Chem. 1987. V. 262. № 3. P. 966.
4. Potter D., Miller D., Hinson J. // J. Biol. Chem. 1985. V. 260. № 22. P. 12174.
5. Kolpin D., Furlong E., Meyer M., Thurman M., Zaugg S., Barber L., Buxton H. // Envir. Sci. Tech. 2002. V. 36. P.1202
6. Pozdnyakov I. P., Plyusnin V.F., Grivin V.P., Vorobyev D.Yu., Bazhin N.M., Vauthey E. // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. 2006. V. 182. P. 75.
7. Benkelberg H.-J., Warneck P. // J. Phys. Chem. 1995. V. 99. № 14. P. 5214..
8. Pozdnyakov I.P., Glebov E.M., Plyusnin V.F., Grivin V.P., Ivanov Y.V., Vorobyev D.Y., Bazhin N.M. // Pure Appl. Chem. 2000. V. 72. P. 2187.
9. Bisby R., Tabassum N. // Biochem. Pharm. 1988. V. 37. № 14. P. 2731.
10. Поздняков И.П., Соседова Ю.А., Плюснин В.Ф., Гривин В.П., Воробьев Д.Ю., Бажин Н.М. // Известия Академии наук. Серия химическая. 2004. № 12. С. 2605
11. Пикаев А.К., Кабачи С.А., Макаров И.Е., Ершов Б.Г. // Импульсный радиолит и его применение. М.: Атомиздат, 1980. С. 118.
12. Buxton G.V., Greenstock C.L., Helman W.P., Ross A.B. // J. Phys. Chem. Ref. Data. 1988. V. 17. № 2. P. 513.
13. Коган В.Е., Фридман В.М., Кафаров В.В. // Справочник по растворимости. М.: Академия наук СССР. 1962. Т.1. №.1. С. 87.
14. P. Neta, J. Grodkowski // J. Phys. Chem. Ref. Data. 2005. V. 34. P. 109.
15. Jin F., Leitich J., Sonntag C. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1993. V. 2. P. 1583.
16. Josson M., Lind J., Reitberger T., Eriksen T.E., Merenyi G. // J. Phys. Chem. 1993. V. 97. P. 8229.