

УДК 541.14

ИЗОМЕРИЗАЦИЯ И ДИССОЦИАЦИЯ ПЕРОКСОНИТРИТ ИОНА ПРИ РАСТВОРЕНИИ КРИСТАЛЛИЧЕСКОГО НИТРАТА КАЛИЯ, ОБЛУЧЕННОГО СВЕТОМ ДЛИНОЙ ВОЛНЫ 253.7 НМ

Е. П. Дягилева, М. Б. Миклин

ISOMERIZATION AND DISSOCIATION OF THE PEROXYNITRITE ION FORMED BY DISSOLVING CRYSTALLINE POTASSIUM NITRATE IRRADIATED WITH 253.7 NMLIGHT

E. P. Dyagileva, M. B. Miklin

Работа выполнена при поддержке государственного задания № 2015/64.

Показано, что наведенный фотолизом пероксонитрит в нитрате калия устойчив после растворения в сильнощелочных растворах ($\text{pH} > 13$). При повышении pH растворения образцов от 10.5 до 14 отмечается увеличение устойчивости пероксонитрита. Растворение образцов в диапазоне pH 3 – 14 приводит к потерям пероксонитрита в разной степени, причем в интервале pH 6 ~ 13.5 пероксонитрит подвергается диссоциации с образованием нитрита с различным выходом.

Photoinduced peroxynitrite in potassium nitrate is stable after dissolution in highly alkaline solutions ($\text{pH} > 13$). Increasing the pH of the solution from 10.5 to 14 increases peroxynitrite stability. Dissolution of the samples in the pH range of 3 – 14 results in varying the degrees of peroxynitrite, and in the pH range of 6 ~ 13.5 peroxynitrite undergoes dissociation to form nitrite with different yield.

Ключевые слова: пероксонитрит ион, фотолиз нитратов, диссоциация, изомеризация.

Keywords: peroxynitrite ion, photolysis of nitrates, dissociation, isomerization.

Введение

В последнее время в разных областях научных исследований возрос интерес к химии перексоазотистой кислоты (ONOOH) и ее аниону – пероксонитрит иону (ONOO^-). Это связано с установлением его важной роли в физиологических процессах (дыхании, регуляции кровяного давления, росте опухолевых клеток и др.), химии атмосферы (как компонента фотохимического смога, полярных атмосферных облаков) и природных вод [1]. Пероксонитрит в живых клетках образуется в результате взаимодействия монооксида азота NO с супероксид-анион радикалом O_2^- [1 – 4]. Образуясь в биологических системах, пероксонитрит оказывает на них повреждающее действие: окисляет липиды и белки, участвует в реакциях нитрования аминокислот и ферментов в присутствии катализаторов, ONOO^- протонируется при физиологических условиях с последующим гомолизом до высокоактивных гидроксильных радикалов и оксида азота и др. [1].

Для изучения взаимодействия пероксонитрит иона с различными биомишенями его синтезируют в водных щелочных растворах [1; 2]. Получение пероксонитрита также возможно в твердой фазе, например, в результате фотолиза кристаллических нитратов [5 – 8].

Согласно данным квантово-механических расчетов, приведенных в работе [9], пероксонитрит ион – плоская молекула, которая может существовать в виде цис- и транс-изомеров, причем цис-изомер энергетически наиболее выгоден. Существование двух изомеров возможно за счет наличие частичного π -связывания для связи N-O [10].

Установлено, что пероксонитрит ион, полученный в водном растворе, существует в виде цис-изомера, максимум поглощения пероксонитрит иона приходится на 302 нм [11]. В работах [12 – 14] сделан вывод о том, что цис-пероксонитрит ион устойчив при pH среды более 10; а при pH ~ 2.2 при температуре 5 °С осуществляется ~ 99 % изомеризация пероксонитрит иона в нитрат ион [12].

В работе [2] сделано предположение, что пероксонитрит в клетках образуется в виде транс-изомера.

Таким образом, вопрос о конформациях пероксонитрита является весьма актуальным. Одна из причин – сложности, возникающие при объяснении механизмов взаимодействия биологических мишеней и пероксонитрита при физиологических условиях. Например, известно [2], что пероксонитрит ион, синтезированный в сильнощелочном растворе, взаимодействует с CO_2 (в диапазоне pH от 5 до 11, при 22 °С) с образованием нестабильного нитропероксикарбоната, который нитрует тирозин с образованием 3-нитротирозина. Однако, данные процессы отсутствуют, если пероксонитрит, образован в результате взаимодействия NO с O_2^- при физиологических условиях (pH 7.4, 38 °С). Для объяснения причины отсутствия указанных реакций авторы работы сделали следующие предположения: в первом случае, продуктом синтеза является цис-пероксонитрит (pK_a 6.8), который участвует в реакциях; во втором случае, продуктом является транс-пероксонитрит, pK_a которого равен 8.0, поэтому при pH 7.4 происходит протонирование транс-пероксонитрит иона с образованием транс-кислоты, которая не взаимодействует с CO_2 и, соответственно, нитрование аминокислоты не происходит.

Конформация пероксонитрит иона, образующегося при фотолизе кристаллических нитратов – вопрос, который пока не имеет однозначного ответа. В работе [15] сделано предположение, что при фотолизе кристаллических щелочных нитратов наиболее вероятным является образование транс-изомера пероксонитрит иона, поскольку прямое образование цис-изомера из электронно-возбужденного нитрат иона в плотноупакованной кристаллической решетке нитратов требует значительных энергетических затрат. Сравнение квантово-механических расчетов [16] и экспериментальных данных [17] о положениях частот колебаний в ИК и КР спектрах пероксонитрита привели авторов [17] к заключению об образовании при фотолизе твердого нитрата калия цис-изомера пероксонитрита.

Сложность изучения химических реакций ONOOH и ONOO^- связана с их высокой реакционной способностью, разнообразием путей превращения, влиянием на скорость реакций и механизмы распада многих факторов: кислотность среды, температура, наличие комплексов металлов и углекислого газа, присутствие органических соединений, концентрация ONOO^- [12, 18].

Целью настоящей работы является исследование влияния pH растворения облученных кристаллических образцов нитрата калия на стабильность и пути превращения пероксонитрит иона в растворе.

Экспериментальная часть

Фотолит нитратов. В работе использовали нитрат калия марки "х. ч.", трижды перекристаллизованный из бидистиллята. Полученные кристаллы измельчали в фарфоровой ступке, помещали тонким слоем в чашку Петри и облучали нефилтрованным светом ртутной лампы низкого давления с длиной волны 253.7 нм при периодическом перемешивании. Интенсивность излучения составила $1.6 \cdot 10^{15}$ квант·см⁻²·с⁻¹.

Определение пероксонитрит ионов. Концентрацию ионов определяли спектрофотометрически, метод основан на взаимодействии пероксонитрит иона с иодидом калия [19].

Определение зависимости выхода пероксонитрит ионов от pH растворения. Навеску облученного нитрата (0.2 г) вносили в колбу вместимостью 25 мл, содержащую 3 мл растворителя – HCl или KOH заданной концентрации, и растворяли в течение 3 минут, затем добавляли смесь (5 мл 5% KI, 10 мл фосфатного буфера pH 6.86, 3 мл нейтрализатора определенной концентрации). Раствор доводили до метки, перемешивали и через 15 минут фотометрировали относительно «холостой» пробы при 355 нм. Молярный коэффициент поглощения I_3^- равен $(24200 \pm 200) \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Определение нитрит ионов. Определение нитрит ионов проводили по методу Шинн [20].

Определение зависимости выхода нитрит ионов от pH растворения. Навеску облученного нитрата (0.2 г) помещали в колбу (100 мл), содержащую 3 мл HCl при «кислотном» или KOH при «щелочном» растворении. Растворяли в течение 3 минут, затем раствор нейтрализовали эквивалентным количеством KOH или HCl. После чего анализ продолжали по методике, указанной в [20]: полученный раствор разбавляли до 50 мл дистиллированной водой, добавляли 1 мл реактива 1 (в 100 мл насыщенного раствора NH_4Cl добавляют 1 г сульфаниловой кислоты и 1 г фенола и доводят водой до 200 мл) и 1 мл 1 M HCl. Перемешивали, через 15 минут добавляли 5 мл 25% NH_3 и доводили водой до метки и фотометрировали относительно «холостой» пробы при 435 нм. Молярный коэффициент поглощения дифенил-азо-п-бензолсульфонокислоты равен $(23500 \pm 700) \text{ M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$.

Регистрация УФ спектров. Спектры регистрировали на спектрофотометре «ShimadzuUV-1700». Для этого навеску (0.2 г) облученного нитрата, помещали в колбу, содержащую 15 мл 0.1 M KOH, и проводили измерения. Регистрацию спектров поглощения проводили только после полного растворения облученных образцов и окончания газовой выделения из раствора.

Контроль среды проводили с помощью pH-метра «pH-340» (рабочий электрод – стеклянный ЭСЛ 43-07, электрод сравнения – хлорсеребряный).

Все эксперименты выполнены при комнатной температуре.

Результаты эксперимента

На рис. 1 показаны результаты химического определения пероксонитрит ионов в растворах, полученных после растворения облученных образцов нитрата калия при различных значениях pH растворения. Как видно, до $\text{pH} \leq 10$ пероксонитрит в растворе не регистрируется. При $\text{pH} > 10.5$ концентрация пероксонитрита резко возрастает. При $\text{pH} \sim 14$ его концентрация приближается к значению, определенному в условиях методики [19] с иодидом калия в буферированном растворе. В работе [19] показано, что для получения корректных результатов следует проводить химическое определение пероксонитрита с применением «быстрых» реакций, подобных реакции с иодидом.

Зависимости выхода пероксонитрита от pH растворения при введении нитрат бария до конечной концентрации в растворе $5 \cdot 10^{-4}$ M и этилендиаминтетраацетат натрия до концентрации $3 \cdot 10^{-3}$ M представлены на рис. 1.

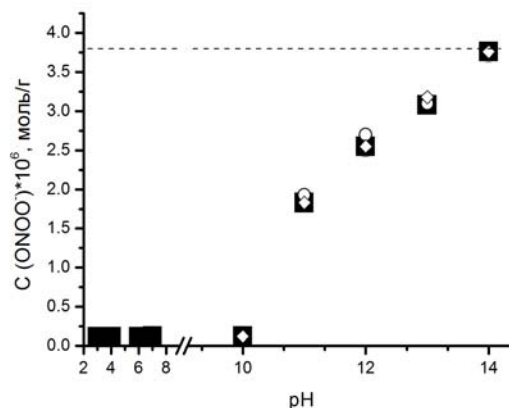


Рис. 1. Зависимость выхода пероксонитрит ионов от pH растворения облученных образцов нитрата калия (◇ – с добавками этилендиаминтетраацетата натрия, ○ – с добавками нитрата бария, ■ – без добавок, пунктир – концентрация пероксонитрит ионов, определенная в условиях методики) [19]

На рис. 2 приведена зависимость выхода нитрит ионов от pH растворения облученных образцов нитрата калия. Как нам видится, наблюдается значительный разброс полученных экспериментальных данных в диапазоне pH растворения от 6.5 до 12. Наибольшее увеличение концентрации нитрит ионов наблюдается в диапазоне pH 10 – 11, при pH более 11 концентрация нитрит ионов уменьшается.

На рис. 3 показана полоса поглощения, обусловленная пероксонитритом, полученная при растворении облученного нитрата калия при pH 13. Максимум поглощения пероксонитрита приходится на 302 нм, что характерно для цис-изомера.

Результаты исследования кинетики пероксонитрита показывают, что только в сильнощелочных растворах (pH 13, 14) он устойчив в течение часа; при растворении облученных образцов при значениях pH < 13 наблюдается уменьшение интенсивности полосы поглощения (рис. 4).

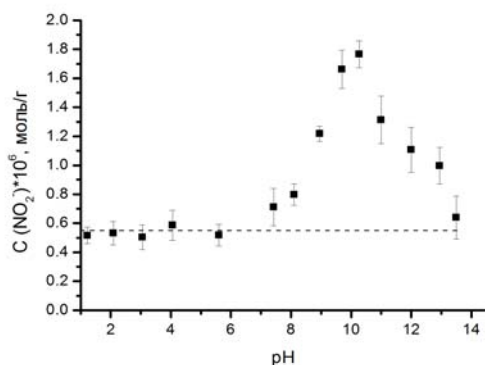


Рис. 2. Зависимость выхода нитрит ионов от pH растворения облученных образцов нитрата калия (пунктир – концентрация нитрит иона, определенная в условиях методики) [20]

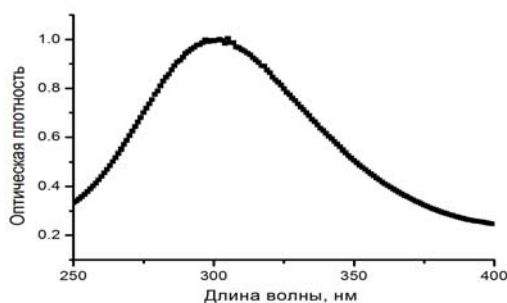


Рис. 3. Полоса поглощения, обусловленная пероксонитритом (растворение облученного нитрата калия в растворе при pH 13)

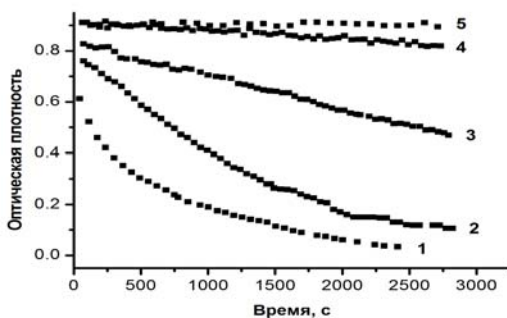


Рис. 4. Кинетические кривые убыли пероксонитрита при выдержке облученных образцов в растворах с разным значением pH среды: 1) 11, 2) 11.5, 3) 11.8, 4) 13, 5) 14

Обсуждение результатов

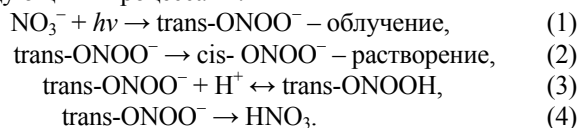
Из экспериментальных результатов, приведенных на рис. 1, видно, что потери пероксонитрита происходят даже при растворении в сильнощелочных растворах. Предполагаемые причины разложения и/или изомеризации пероксонитрита в условиях данного эксперимента при pH > 12 могут быть связаны с выделением теплоты при проведении реакции нейтрализации сильнощелочных растворов соответствующими количествами кислоты. Другой возможной причиной, влияющей на поведение пероксонитрита в растворе могут

быть конкурирующие реакции, а именно CO₂ – катализируемая изомеризация пероксонитрита (pH независимая реакция, k = 3·10⁴ М⁻¹·с⁻¹ [18]) и его изомеризация в присутствии ионов тяжелых d-металлов в нитрат-ион [21]. Совокупность экспериментальных данных, приведенных на рис. 1, позволяет сделать вывод о том, что при определении пероксонитрита с применением методики с иодидом калия [19] эти факторы не оказывают влияния на скорость процессов разложения и/или изомеризации.

Данные приведенные на рис. 2 показывают, что наибольшее увеличение концентрации нитрита наблюдается при pH ~ 10, что, очевидно, обусловлено высокой степенью разложения пероксонитрита до нитрита и молекулярного кислорода. Если растворение образцов проводить при pH менее 6, то пероксонитрит не дает вклада в анализ на нитрит-ион, так как, по-видимому, практически полностью переходит в нитрат-ион, как и в случае изомеризации цис-изомера пероксонитрит-иона в аналогичных условиях [21]. При pH более 10.5 концентрация нитрит-ионов уменьшается, вероятно, это связано с увеличением стабильности пероксонитрита в этих условиях.

Экспериментально полученная pH зависимость при определении выхода пероксонитрита в облученных образцах нитрата калия, приведенная на рис. 1, смещена относительно экспериментально полученных pH зависимостей для цис-изомера пероксонитрита, приведенных в литературе [17, 22, 23], в более щелочную область. Исходя из данных на рис. 1 и 2, можно примерно оценить значение рK_a для пероксоазотистой кислоты – значение находится в диапазоне от 10 до 12. В литературе приводятся следующие значения констант кислотно-основного равновесия: для цис-формы пероксоазотистой кислоты рK_a ~ 6.8 [17, 22, 23], и для транс-формы пероксоазотистой кислоты предполагаются значения рK_a от 8 и выше [17; 23]. Таким образом, можно предположить, что при фотолизе нитрата калия образуется транс-изомер.

По-нашему мнению, наблюдаемый сдвиг выхода пероксонитрита от pH растворения облученных образцов в щелочную область (рис. 1), примерно оцененное значение рK_a и наблюдаемый максимум поглощения пероксонитрита при 302 нм (рис. 3), можно объяснить образованием транс-изомера пероксонитрита при фотолизе нитратов щелочных металлов, который переходит в цис-изомер при растворении облученных образцов. Возможный механизм, происходящий при растворении облученного нитрата калия, можно представить следующими процессами:



Однако в настоящее время теоретические или экспериментальные значения констант скорости реакции не установлены.

Заключение

Совокупность экспериментальных данных, полученных в настоящей работе, позволяет сделать предположение, что при фотолизе нитрата калия наиболее вероятным является образование транс-изомера пероксонитрита, который при растворении облученных образцов нитрата изомеризуется в цис-изомер. Устойчи-

вость транс-пероксонитрита ниже по сравнению с устойчивостью цис-пероксонитрита, так как транс-изомер начинает гибнуть в растворе при $\text{pH} < 13$, а цис-изомер – при $\text{pH} < 10$ [12 – 14]. Очевидно, что цис- и транс-изомеры пероксонитрита в растворах различной кислотности проявляют различную реакционную спо-

собность. Это весьма важно и может использоваться при обсуждении механизмов реакций пероксонитрита с различными биологическими молекулами, протекающих в физиологических условиях, поскольку при их установлении активно рассматривают реакции с участием как цис-, так и транс- изомеров пероксонитрита.

Литература

1. Лобачев В. Л., Рудаков Е. С. Химия пероксинитрита. Кинетика и механизм реакций // Успехи химии. 2006. Т. 75. № 5. С. 422 – 444.
2. Pfeiffer S., Mayer B. Lack of Tyrosine Nitration by Peroxynitrite Generated at Physiological pH // J. Biol. Chem. 1998. V. 273. № 42. P. 27280 – 27285.
3. Khan A. U., Kovacic D., Kolbanovskiy A. [et al.]. The decomposition of peroxynitrite to nitroxyl anion (NO^-) and oxygen in aqueous solution // PNAS. 2000. V. 97. № 7. P. 2984 – 2989.
4. Jourdeuil D., Jourdeuil F. L., Kutchukian P. S. Reaction of Superoxide and Nitric Oxide with Peroxynitrite // J. Biol. Chem. 2001. V. 276. № 31. P. 28799 – 28805.
5. Ананьев В. А., Миклин М. Б., Власкин В. А., Кригер Л. Д. Фотолиз нитратов щелочных металлов // Химия высоких энергий. 1997. Т. 31. № 2. С. 114 – 117.
6. Кригер Л. Д., Миклин М. Б., Дягилева Е. П., Ананьев В. А. Фотолиз нитратов щелочно-земельных металлов // Журнал физической химии. 2013. Т. 87. № 2. С. 326 – 330.
7. Anan'ev V. A. Defects formation under photolysis of crystalline alkali nitrates // IOP Conf. Series: Materials Science and Engineering. 2010. V. 15. P. 012078.
8. Миклин М. Б., Ананьев В. А., Лыршиков С. Ю., Нелюбина Н. В., Скибина А. В. Образование пероксонитрита и нитрита при фотолизе кристаллических нитратов // Ползуновский вестник. 2006. № 2 – 1. С. 53 – 56.
9. McGrath M. P., Franel M. M., Rowland F. S. Hehre W. J. Isomers of nitric acid and chlorine nitrate // J. Phys. Chem. 1988. V. 92. № 19. P. 5352 – 5357.
10. Tsai H. H., Hamilton T. P., Tsai J. H. M. Ab Initio and NMR Study of Peroxynitrite and Peroxynitrous Acid: Important Biological Oxidants // J. Phys. Chem. Soc. 1996. V. 100. № 37. P. 15087 – 15095.
11. Hughes M. H., Nicklin H. G. The chemistry of pernitrites. Part I. Kinetics of decomposition of pernitrous acid // J. Chem. Soc. 1968. P. 450 – 452.
12. Kissner R., Koppenol W. H. Product Distribution of Peroxynitrite Decay as a Function of pH, Temperature, and Concentration // J. Am. Chem. Soc. 2002. V. 124. № 2. P. 234 – 239.
13. Logager T., Sehested K. Formation and Decay of Peroxynitrous Acid: A Pulse Radiolysis Study // J. Phys. Chem. 1993. V. 97. P. 6664 – 6669.
14. Beckman J. S., Beckman T. W., Chen J. [et al.]. Apparent hydroxyl radical production by peroxynitrite: implications for endothelial injury from nitric oxide and superoxide // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1990. V. 87. P. 1620 – 1624.
15. Миклин М. Б., Невоструев В. А. О механизме образования и конформациях пероксонитрита // Журнал научной и прикладной фотографии. 2002. Т. 47. № 5. С. 3 – 7.
16. Liang B., Andrews L. Infrared Spectra of cis- and trans-Peroxynitrite Anion, OONO^- , in Solid Argon // J. Am. Chem. Soc. 2001. V. 123. № 40. P. 9848 – 9854.
17. Tsai J. H. M., Harrison J. G., Martin J. C. [et al.]. Role of Conformation of Peroxynitrite Anion (ONOO^-) with Its Stability and Toxicity // J. Am. Chem. Soc. 1994. V. 116. № 9. P. 4115 – 4116.
18. Lymer S. V., Hurst J. K. Rapid Reaction between Peroxonitrite Ion Carbon Dioxide: Implication of Biological Activity // J. Am. Chem. Soc. 1995. V. 117. № 34. P. 8867 – 8868.
19. Шрайбман Г. Н., Дягилева Е. П., Скибина А. В. Спектрофотометрические методики определения пероксонитрита и нитрита // Вестник КемГУ. 2011. № 1(45). С. 200 – 206.
20. Уильямс У. Дж. Определение анионов. М.: Химия, 1982. 148 с.
21. Plumb R. C., Edwards J. O. Problem of Concurrent Measurements of Peroxonitrite and Nitrite Contents // Analyst. 1992. V. 117. P. 1639 – 1641.
22. Koppenol W. H. The basic chemistry of nitrogen monoxide and peroxynitrite // Free Radic. Biol. Med. 1998. V. 25. № 4/5. P. 385 – 391.
23. Crow J. P., Spruell C., Chen J. [et al.]. On the pH-dependent yield of hydroxyl radical products from peroxynitrite // Free Radical Biol. Med. 1994. V. 16. P. 331 – 338.

Информация об авторах:

Дягилева Елена Павловна – кандидат химических наук, доцент кафедры физической, коллоидной, аналитической и органической химии КемГМА, dyagilevaep@mail.ru.

Elena P. Dyagileva – Candidate of Chemistry, Assistant Professor at the Department of Physical, Colloidal, Analytical and Organic Chemistry, Kemerovo State Medical Academy.

Миклин Михаил Борисович – кандидат химических наук, старший научный сотрудник кафедры физической химии КемГУ, miklin@kemsu.ru.

Mikhail B. Miklin – Candidate of Chemistry, Senior Research Associate at the Department of Physical Chemistry, Kemerovo State University.

Статья поступила в редколлегию 21.09.2015 г.