

ОЦЕНКА ПУТЕЙ ТРАНСФОРМАЦИИ ФУНКЦИОНАЛИЗОВАННЫХ АРЕНОВ В УСЛОВИЯХ ПРИРОДНЫХ СРЕД

А.С. Лебедев, В.Ю. Орлов

Антон Сергеевич Лебедев*, Владимир Юрьевич Орлов

Кафедра органической и биологической химии, Ярославский государственный университет им. П.Г. Демидова, пр-д Матросова, 9, Ярославль, Российская Федерация, 150057

E-mail: logos2012@yandex.ru*, orl@uniyar.ac.ru

В статье рассматриваются вопросы реализации путей трансформации ароматических соединений – широко распространенных ксенобиотиков в водных системах. Данная проблематика имеет как теоретическое (химическая лабильность в сложных реакционных системах), так и прикладное (целеуказание для разработки методов их анализа) значение. В качестве объектов исследования были выбраны бензойная, 4-гидроксибензойная, 2-гидроксибензойная, 2-хлорбензойная кислоты, метиловый эфир 4-гидроксибензойной кислоты, салициловый эфир уксусной кислоты. Они нашли применение в пищевой, фармацевтической, косметической промышленности в качестве консервантов, в химической промышленности и лабораторной практике как исходные вещества для синтеза новых органических веществ, в аналитической химии как реагенты, хромофоры, стандарты в калориметрическом анализе. В качестве метода исследования нами использовано квантово-химическое моделирование механизмов абиотической и биodeградации функционализированных аренов. Показано, что для бензойной кислоты, включая окислительный разрыв цикла, наиболее вероятна реализация превращений через 2,3-дигидроксибензойную кислоту до 1,3-бутадиен-1,1,4-трикарбоновой кислоты (продукт интрадиольного окислительного разрыва цикла). Для 2-гидроксибензойной кислоты (как самого соединения, так и продуктов превращения салицилового эфира уксусной кислоты, 2-хлорбензойной кислоты) наблюдается процесс трансформации, протекающий через 2,3-дигидроксибензойную кислоту до 1,3-бутадиен-1,1,4-трикарбоновой кислоты (продукт интрадиольного окислительного разрыва цикла). Для 4-гидроксибензойной кислоты (как самого соединения, так и продукта превращения метилового эфира 4-гидроксибензойной кислоты) наблюдается трансформация, протекающая через 3,4-дигидроксибензойную кислоту до 1,3-бутадиен-1,2,4-трикарбоновой кислоты (продукт интрадиольного окислительного разрыва цикла). Из указанного следует, что преимущественным выступает интрадиольный путь окислительного разрыва цикла. Соответственно, в пробах следует ожидать преимущественного накопления следующих соединений, образующихся в результате трансформации: 2- и 4-гидроксибензойные кислоты, 2,3- и 3,4-дигидроксибензойные кислоты, продукты интрадиольного окислительного разрыва цикла и результаты их дальнейшей трансформации.

Ключевые слова: трансформация ароматических соединений, биodeградация функционализированных аренов, окислительный разрыв ароматического цикла

IDENTIFICATION OF TRANSFORMATION FUNCTIONALIZED ARENES DIRECTIONS IN NATURAL ENVIRONMENT CONDITIONS

A.S. Lebedev, V.Yu. Orlov

Anton S. Lebedev*, Vladimir Yu. Orlov

Department of Organic and Biological Chemistry, Yaroslavl Demidov State University, proezd Matrosova, 9, Yaroslavl, 150057, Russia

E-mail: logos2012@yandex.ru*, orl@uniyar.ac.ru

The article discusses the evaluation of the aromatic compounds pathways transformations – widespread xenobiotics of aqueous systems. This issue has both theoretical (chemical lability in complex reaction systems) and applied (target designation for the development analytical methods) meaning. Benzoic, 4-hydroxybenzoic, 2-hydroxybenzoic, 2-chlorobenzoic acids, 4-hydroxybenzoic acid methyl ester, and salicylic ester of acetic acid were chosen as objects of investigation. They have been used in food, pharmaceutical, cosmetic industries as preservatives, in chemical industry and laboratory practice as starting materials for the synthesis of new organic compounds, in analytical chemistry as reagents, chromophores, and standards in calorimetric analysis. We used quantum chemical modeling mechanisms of abiotic and biodegradation of functionalized arenes as a research method. It has been shown that for the transformation of benzoic acid, including oxidative breaking of cycle, the most probable is the path through 2,3-dihydroxybenzoic acid to 1,3-butadiene-1,1,4-tricarboxylic acid (the product of the intradiol oxidative breaking of the cycle). There is transformation path through 2,3-dihydroxybenzoic acid to 1,3-butadiene-1,1,4-tricarboxylic acid (product intradiol oxidative rupture of the cycle) realized for 2-hydroxybenzoic acid (compound itself and the products of the conversion of salicylic ester of acetic acid, 2-chlorobenzoic acid). Pathway is observed through 3,4-dihydroxybenzoic acid to 1,3-butadiene-1,1,4-tricarboxylic acid (the product of the intradiol oxidative break cycle) for 4-hydroxybenzoic acid (compound itself and the product of the conversion of 4-hydroxybenzoic acid methyl ester). As it follows from the above, the intraradiol path of the oxidative cycle breaking seems to be the most preferable. Accordingly, a preferential accumulation of the following substances should be expected as results of the samples transformation: 2- and 4-hydroxybenzoic acids, 2,3- and 3,4-dihydroxybenzoic acids, products of the radical oxidative breaking of the cycle and the results of their further transformation.

Key words: arenes transformation, functionalized arenes biodegradation, aromatic cycle oxidative breaking

Для цитирования:

Лебедев А.С., Орлов В.Ю. Оценка путей трансформации функционализированных аренов в условиях природных сред. *Изв. вузов. Химия и хим. технология.* 2020. Т. 63. Вып. 7. С. 15–19

For citation:

Lebedev A.S., Orlov V.Yu. Identification of transformation functionalized arenes directions in natural environment conditions. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* [Russ. J. Chem. & Chem. Tech.]. 2020. V. 63. N 7. P. 15–19

ВВЕДЕНИЕ

Важным фактором оценки содержания и оценки безопасности химических соединений при влиянии на живые организмы являются их подвижность и устойчивость. Последние тесно связаны с процессами их превращений в биотических и абиотических условиях. Зачастую основное влияние на состояние окружающей среды оказывают не набор исходных ксенобиотиков, а структурные результаты их трансформации. Отсюда возникает проблема идентификации промежуточных соединений, имеющая как теоретическое, так и прикладное значение. В настоящее время функционализированные производные бензола широко используются во многих сферах промышленного производства: пищевой, фармацевтической, косметической отраслях промышленности, в лабораторной практике как исходные вещества и полупродукты для синтеза, как реагенты, хромофоры, стандарты. Сферы использования данных химических соединений, механизмы их консервирующего действия подробно описаны в литературе [1-7]. В представленной работе рассматриваются вопросы трансформации в водных системах.

МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

В качестве метода исследования нами использовано квантово-химическое моделирование механизмов абиотического и биodeградации ароматических соединений, как широко распространенных ксенобиотиков. В рамках используемой модели учитывалось влияние растворителя путем добавления в систему 2-х молекул воды. Квантово-химическое моделирование проводилось в программе Firefly version 8.2.0 [8]. Оптимизация геометрии и расчет энергетических параметров исследуемых соединений выполнялись с использованием неэмпирического метода расчета (неограниченное приближение Хартри-Фока, UHF) и базисного набора 6-31G(d,p). Визуализация результатов расчета выполнялась с использованием программного пакета ChemCraft version 1.6 trial [9].

В качестве объектов исследования были выбраны бензойная, 4-гидроксibenзойная, 2-гидроксibenзойная, 2-хлорбензойная кислоты, метиловый эфир 4-гидроксibenзойной кислоты, салициловый эфир уксусной кислоты.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В литературе предложен целый набор путей трансформации, которые можно свести к общей схеме, представленной на рис. 1 [10-13].

В условиях постановки модельного эксперимента предполагается возможное протекание следующих процессов: окисление в присутствии ферментов (оксигеназ), гидролиз ряда соединений (ацетилсалициловая кислота, фенилсалицилат, алкилпарабены).

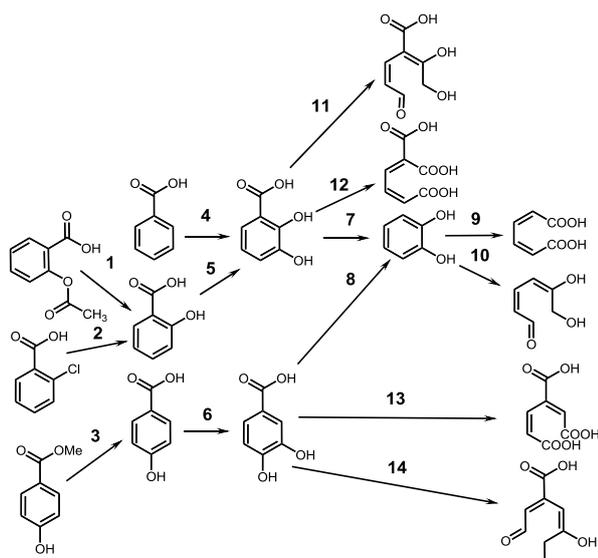


Рис. 1. Общая схема превращений функционализированных бензолов в условиях абиотической и биотической трансформации

Fig. 1. The general scheme of functionalized benzenes transformations at the abiotic and biotic conditions

Замещение галогенов и гидролиз сложных эфиров протекают, как правило, по абиотическому пути.

Реакции ферментативного окисления большинства карбоароматических соединений сопровождаются гидроксированием, которое катализируется монооксигеназой или диоксигеназой, что приводит к образованию дигидроксипроизводных. По мнению авторов [14], окислительный разрыв бензольного кольца – один из финальных этапов деградации карбоароматических соединений.

Одну из ключевых функций в данном процессе выполняют железосодержащие негемовые диоксигеназы – ферменты, обеспечивающие ход реакций окислительного разрыва ароматического кольца с участием молекулярного кислорода в качестве окислителя [15-18].

Выделяют два основных пути окислительного разрыва цикла: экстрадиольный (стадии 10, 11, 14) и интрадиольный (стадии 9, 12, 13) (рис. 1).

Так, в случае экстрадиольного пути разрыв связи кольца пирокатехина происходит между атомами углерода до полуальдегида 2-гидроксимуконной кислоты, протокатеховой кислоты между атомами углерода до полуальдегида 2-гидрокси 4-карбоксимуконной кислоты, в случае интрадиольной дециклизации – у пирокатехина между атомами углерода до *цис,цис*-муконной кислоты, у протокатеховой кислоты между атомами углерода до 3-карбоксии *цис,цис*-муконной кислоты [19, 20].

В литературе, описывающей процессы трансформации функционализированных аренов, преимущественно рассматривается интрадиольный путь окислительного разрыва цикла [21] без возможных альтернатив.

Целью настоящего исследования явилась оценка преимущественного пути преобразования функционализированных производных бензола, указывающего на накопление продуктов трансформации, включая этап окислительного разрыва ароматического цикла в рамках схемы, представленной на рис. 1.

Для стадий 1 и 3 рассмотрен абиотический процесс гидролиза сложных эфиров в основной среде. Стадия 2 рассмотрена как процесс нуклеофильного замещения хлора гидроксид-анионом в основной среде.

Для остальных процессов применяется модель реакций, катализируемых ферментами. В качестве модели используется элемент структуры последних – их каталитический центр и рассматривается взаимодействие с субстратом.

Для процессов окислительного гидроксирования (стадии 4-6) в качестве каталитического центра рассмотрен активный центр монооксигеназы – цитохром P-450 (рис. 2):

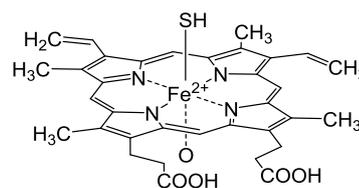


Рис. 2. Структура модели активного центра фермента монооксигеназы – цитохрома P-450

Fig. 2. Monooxygenase active center model – cytochrome P-450

В случае ароматических углеводов С-гидроксирование протекает через стадию присоединения к активному центру фермента с образованием аренокислов в качестве промежуточных продуктов (рис. 3). При этом ключевой стадией, запускающей процесс биотрансформации, является, в частности, для производных бензола – образование интермедиата типа σ -комплекса, содержащего тетраэдрический координированный атом углерода.

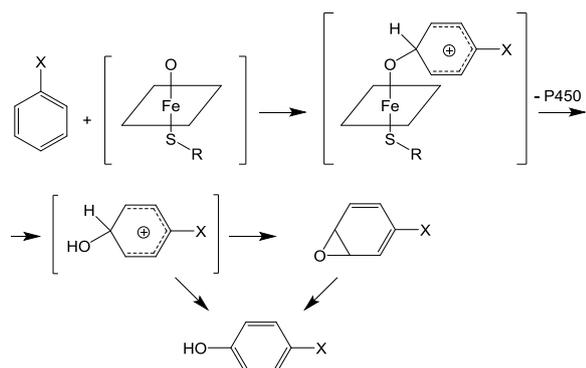


Рис. 3. Последовательность стадий С-гидроксилирования в присутствии цитохрома P-450
 Fig. 3. Sequence of C-hydroxylation steps in the presence of cytochrome P-450

Для моделирования процессов декарбосилирования (стадии 7, 8) в качестве реакционного центра фермента использован фрагмент никотинамидаденидинуклеотидфосфата NADP(+). В данном процессе ключевой стадией выступал перенос водорода при одновременном отщеплении диоксида углерода от комплекса субстрат-фермент.

В рамках исследования стадии дециклизации в качестве каталитического центра рассмотрен фрагмент интрадиолдиоксигеназы [14]. Исследован способ активации фермент-субстратного комплекса кислородом, присоединение активированного кислорода к субстрату [16, 17].

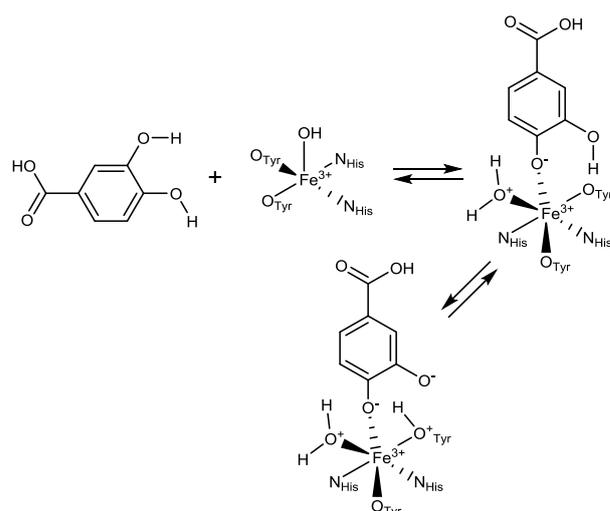


Рис. 4. Схема сближения 3,4-гидроксибензойной кислоты и каталитического центра протокатехат-3,4-диоксигеназы при депротонировании 4-OH и 3-OH групп
 Fig. 4. Scheme of convergence of 3,4-hydroxybenzoic acid and protocatechuate-3,4-dioxygenase catalytic center at deprotonation of 4-OH and 3-OH groups

По результатам квантово-химического моделирования были получены характеристики энергетических барьеров для отдельных стадий общего набора превращений (разность теплоты образования исходных структур и переходного состояния системы ΔH_f) (таблица).

Таблица

Разность теплоты образования переходного состояния системы и исходных структур для ключевых стадий процесса трансформации функционализированных аренов в условиях абиотической и биотической трансформации (схема превращений, рис. 1), кДж/моль

Table. The difference in the heat of formation of transition states and initial structures of the system for the key stages of the transformation process of functionalized arenes in the abiotic and biotic conditions (scheme of transformations, Fig. 1), kJ/mol

Стадия превращения	1	2	3	4	5	6	7
ΔH_f , кДж/моль	33,06	62,27	43,88	58,21	87,67	88,75	194,58
Стадия превращения	8	9	10	11	12	13	14
ΔH_f , кДж/моль	185,22	223,47	253,98	198,71	174,96	177,75	204,58

Из приведенных данных, основываясь на значениях энергетических барьеров, можно сделать заключение, что для трансформации бензойной кислоты, включая окислительный разрыв цикла, наиболее вероятна реализация пути трансформации по стадиям 4-12 (рис. 1). Для 2-гидроксибензойной кислоты (как самого соединения, так и продуктов превращения салицилового эфира уксусной кислоты, 2-хлорбензойной кислоты) наблюдается путь превращения по стадиям 1-2-5-12. Для 4-гидроксибензойной кислоты (как самого соединения, так и продукта превращения метилового эфира 4-гидроксибензойной кислоты) наблю-

дается путь 3-6-13. Из указанного следует, что преимущественным является интрадиольный путь окислительного разрыва цикла и, соответственно стадии, ведущие к этому процессу.

ВЫВОДЫ

Отбор стадий трансформации функционализированных аренов по значениям энергетических барьеров ключевых стадий показал, что преимущественным является интрадиольный путь окислительного разрыва цикла и стадии, ведущие к этому процессу (исключая стадию декарбосилирования соответствующих карбоксибензолов).

Из этого следует, что при разработке аналитических методик мониторинга следует ожидать преимущественного накопления следующих соединений, образующихся в результате трансформации: 2- и 4-гидроксibenзойные кислоты, 2,3- и 3,4-дигидроксibenзойные кислоты, продукты интрадиольного окислительного разрыва цикла и продукты их дальнейшей трансформации.

Работа выполнена в рамках НИР ЯрГУ № ОП-2Г-04-2019.

ЛИТЕРАТУРА
REFERENCES

- Oliveira A.C., Coelho M.G., Pires R.F., Franco M.R. Solubility of benzoic acid in mixed solvents. *J. Chem. Eng.* 2007. V. 52. P. 298-300. DOI: 10.1021/je060408x
- Kamaraju K., Sukharev S. The membrane lateral pressure-perturbing capacity of parabens and their effects on the mechanosensitive channel directly correlate with hydrophobicity. *Biochem.* 2008. V. 47. P. 10540-10550. DOI: 10.1021/bi801092g.
- Сычев С.Н., Гаврилина В.А., Музалевская Р.М. Высокоэффективная жидкостная хроматография как метод определения фальсификации и безопасности продукции. М.: «DeLi принт». 2005. 148 с. Sychev S.N., Gavrulina V.A., Muzalevskaya R.M. High performance liquid chromatography as a method for determining product falsification and safety. М.: «DeLi print». 2005. 148 p.
- Bertsova Yu.V., Popov V.N., Bogachev A.V. NADH oxidation by mitochondria from the thermogenic plant *Arum orientale*. *Biochem.* 2004. V. 69. N 5. P. 712-718. DOI:10.1023/b:biry.0000029858.35466.f9.
- Darbre P.D., Harvey P.W. Paraben esters: review of recent studies of endocrinotoxicity, absorption, esterase and human exposure, and discussion of potential human health risks. *J. Appl. Toxicol.* 2008. V. 28. N 5. P. 561-578. DOI: 10.1002/jat.1358.
- Bach R.D. Role of the somersault rearrangement in the oxidation step for flavin monooxygenases (FMO). A comparison between fmo and conventional xenobiotic oxidation with hydroperoxides. *J. Phys. Chem. A.* 2011. V. 115. P. 11087-11100. DOI: 10.1021/jp208087u.
- Artemyanov A.P., Zemskova L.A. Chlorophenols removal from solution using adsorption and oxidation in presence of activated carbon fiber. *Izv. Vyssh. Uchebn. Zaved. Khim. Khim. Tekhnol.* [Russ. J. Chem. & Chem. Tech.]. 2019. V. 62. N 6. P. 138-144 DOI:10.6060/ivkkt.20196206.5821
- Granovsky A.A. Firefly version 8.2.0, www http://classic.chem.msu.ru/gran/firefly/index.html
- ChemCraft: http://www.chemcraftprog.com/
- Mortier J., Kholdeeva O.A. *Arene Chemistry: Reaction Mechanisms and Methods for Aromatic Compounds*. Hoboken: John Wiley & Sons, Inc. 2016. 992 p. DOI: 10.1002/9781118754887.ch14.
- Zhang Q., Qu Y., Zhang X., Zhou J., Wang H. Extradiol dioxygenase-SiO₂ sol-gel modified electrode for catechol and its derivatives detection. *Biosens. Bioelectron.* 2011. V. 26. N 11. P. 4362-4367. DOI: 10.1016/j.bios.2011.04.042.
- Guzik U., Gren I., Hupert-Kocurek K., Wojcieszynska D. Catechol 1,2-dioxygenase from the new aromatic compounds – Degrading *Pseudomonas putida* strain N6. *Int. Biodeterior. Biodegrad.* 2011. V. 65. N 3. P. 504-512. DOI: 10.1016/j.ibiod.2011.02.001.
- Setlhare B., Kumar A., Mokoena M., Olaniran A. Catechol 1,2-dioxygenase is an analogue of homogentisate 1,2-dioxygenase in *Pseudomonas chlororaphis* strain UFB2. *Int. J. Mol. Sci.* 2018. V. 20. P. 61-74. DOI: 10.3390/ijms.2001.00.61.
- Лебедев А.С., Орлов В.Ю. Анализ путей деградации функционализированных аренов в условиях водно-органических модельных сред. *Приклад. биохимия и микробиол.* 2014. Т. 50. № 4. С. 414-421. DOI: 10.7868/S0555109914040230. Lebedev A.S., Orlov V.Yu. Analysis of 1,2-dioxygenase is an analogue of homogentisate 1,2-dioxygenase in *Pseudomonas chlororaphis* strain *Prıkl. Biokhim. Mikrobiol.* 2014. V. 50. N 4. P. 414-421 (in Russian). DOI: 10.7868/S0555109914040230.
- Ruzzini A.C., Ghosh S., Horsman G.P., Foster L.J., Bolin J.T., Eltis L.D. Identification of an acyl-1,2-dioxygenase is an analogue of homogentisate 1,2-dioxygenase in *Pseudomonas chlororaphis* strain *J. Am. Chem. Soc.* 2012. V. 134. P. 4615. DOI: 10.1021/ja208544g.
- Nakatani N., Hitomi Y., Sakaki S. Multistate CASPT2 study of native iron (III)-dependent catechol dioxygenase and its functional models: electronic structure and ligand-to-metal charge transfer excitation. *J. Phys. Chem. B.* 2011. V. 115. P. 4781. DOI: 10.1021/jp110045f.
- Nakatani N., Nakao Y., Sato H. Theoretical study of dioxygen binding process in iron(III) catechol dioxygenase: «Oxygen Activation» vs «Substrate Activation». *J. Phys. Chem. B.* 2009. V. 113. P. 4826. DOI: 10.1021/jp806507k.
- Abu-Omar M. M., Loaiza A., Hontzeas N. Reaction mechanisms of mononuclear non-heme iron oxygenases. *Chem. Rev.* 2005. V. 105. N 6. P. 2227. DOI: 10.1021/cr040653o.
- Pau M.Y.M., Davis M.I., Orville A.M., Lipscomb J.D., Solomon E.I. Spectroscopic and electronic structure study of the enzyme-substrate complex of intradiol dioxygenases: substrate activation by a high-spin ferric non-heme iron site. *J. Am. Chem. Soc.* 2007. V. 129. N 7. P. 1944. DOI: 10.1021/ja065671x.
- Orville A.M., Elango N., Lipscomb J.D., Ohlendorf D. Structures of competitive inhibitor complexes of protocatechuate 3,4-dioxygenase: multiple exogenous ligand binding orientations within the active site. *Biochem.* 1997. V. 36. P. 10039. DOI: 10.1021/bi970468n.
- Егорова Д.О., Корсакова Е.С., Демаков В.А., Плотникова Е.Г. Деструкция ароматических углеводородов штаммом *Rhodococcus wratislaviensis* KT112_7, выделенным из отходов соледобывающего предприятия. *Приклад. биохимия и микробиол.* 2013. Т. 49. № 3. С. 267-278. DOI: 10.7868/S0555109913030070. Egorova D.O., Korsakova E.S., Demakov V.A., Plotnikova E.G. Degradation of aromatic hydrocarbons by the *Rhodococcus wratislaviensis* KT112-7 isolated from waste products of a salt-mining plant. *Appl. Biochem. And Microbiol.* 2013. V. 49. N 3. P. 244-255. DOI: 10.7868/S0555109913030070.

Поступила в редакцию 13.01.2020
Принята к опубликованию 06.05.2020

Received 13.01.2020
Accepted 06.05.2020