

С. Е. Ткаченко, Т. П. Трофимова, В. М. Федосеев

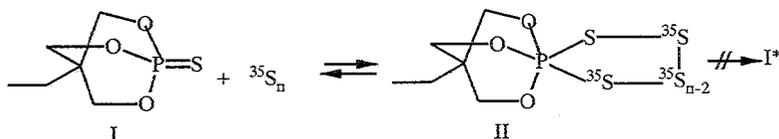
СИНТЕЗ И УСТОЙЧИВОСТЬ 4-ЭТИЛБИЦИКЛОТИОНФОСФАТА, МЕЧЕННОГО СЕРОЙ-35

Исследованы различные синтетические пути получения 4-этил-2,6,7-триокса-1-фосфабицикло[2,2,2]октан-1-тиоксида, меченного серой-35, представляющего значительный интерес как радиолиганд для нейрехимии. Синтез тионфосфата успешно осуществлен сульфурированием соответствующего бициклофосфита элементной серой-35, однако радиохимическая чистота вещества, полученного этим методом, оказалась низкой. Найдены удобные методы синтеза тиоокиси из [³⁵S]тиомочевины, основанные на эффектах авторадииолиза исходной [³⁵S]тиомочевины, приводящие к тиоокиси с высокой радиохимической чистотой. Исследована авторадииолитическая устойчивость меченого тионфосфата.

4-Алкил-2,6,7-триокса-1-фосфабицикло[2,2,2]октан-1-тиоксиды (бициклотионфосфаты) [1] представляют собой селективно действующие нейротропные препараты, способные подавлять нейрональные эффекты γ-аминомасляной кислоты. Некоторые из бициклотионфосфатов, являющиеся селективными блокаторами Cl⁻ каналов, обладают исключительно высокими токсичностью [1, 2] и физиологической активностью [1, 3], а меченные радиоизотопами соединения этого класса используются в настоящее время как радиолиганды для нейрехимии и нейрофармакологии [1, 4, 5].

Целью настоящей работы явился поиск оптимальных методов синтеза меченного серой-35 4-этилбициклотионфосфата I*.

В качестве одного из возможных подходов к синтезу тионфосфата I* мы исследовали изотопный обмен в системе 4-этилбициклотионфосфат I — элементная сера-35, до настоящего времени не изученный. Мы исходили из предположения, что в отличие от нециклических производных тионфосфорной кислоты [6], которые не обмениваются с элементной серой-35, соединения I вследствие большей стерической доступности атома фосфора в их структуре и способности образовывать спиросоединения [1] будут способны также образовывать интермедиаты II, а следовательно, участвовать в изотопном обмене.

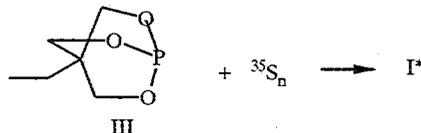


Однако мы обнаружили, что этот процесс не идет и в случае соединения I. Анализ реакционных смесей проводили методом тонкослойной радиохроматографии. Реакцию проводили в толуоле, в смеси толуола и амилowego спирта (1 : 1) и без растворителя при различной температуре (60...120 °С). При проведении реакции без растворителя даже при температуре не более 100 °С наблюдалось заметное разрушение соединения I с незначительной тенденцией к вхождению радиоактивной метки.

Известны два принципиально различных способа синтеза бициклотионфосфатов. Первый основан на фосфорилировании соответствующих триолов тиохлорокисью фосфора, который, однако, не дает высокого выхода. Кроме того, в этом случае введение радиоактивной метки производится не на последней стадии получения бициклотионфосфата, поэтому метод в целом

неприменим для радиохимического синтеза. Второй способ заключается в сульфуровании соответствующего бициклофосфита подходящим серосодержащим реагентом. В качестве последнего использовали элементарную серу [7, 8] и меркаптаны [1]. В настоящей работе мы показали, что этот подход применим и для синтеза соединения I*, меченого серой-35, однако его выход и радиохимическая чистота существенно зависят от условий реакции.

Исходный 4-этилбициклофосфит III удалось тионировать, используя в качестве реагента элементарную серу-35:



При проведении реакции без растворителя (в расплаве реагентов в инертной атмосфере) выход соединения I* не более 15%, а при использовании в качестве реакционной среды толуола, *n*-ксилола или смеси толуол—амиловый спирт, 1 : 1, — удовлетворительный (табл. 1). Добавки сульфида натрия не приводят к увеличению выхода. Тионфосфат I* (как и весь класс бициклофосфатов [1]) — весьма лабильная структура, что проявляется в значительном уменьшении выхода при продолжительности реакции более 6 ч. Обнаружено также, что выход понижается при увеличении удельной радиоактивности элементарной серы, что может быть следствием высокой радиационной чувствительности соединения I*, которая подтверждается значительными эффектами авторадииолиза этого вещества при хранении.

Т а б л и ц а 1

Радиохимический выход (%) тионфосфата I* при взаимодействии фосфита III (C₀ = 1,5 моль/л) с элементарной серой-35 (C₀ = 1,5 моль/л) в различных условиях

Условия	Время, ч	Удельная активность серы-35, мКи/ммоль	Радиохимический выход [*] , %
<i>n</i> -Ксилол, 138 °С	1	0,5	30
<i>n</i> -Ксилол, 138 °С	4	0,5	43
Толуол, 110 °С	1	0,5	22
Толуол, 110 °С	4	0,5	65
Толуол, 110 °С	6	0,5	78
Толуол, 110 °С	10	0,5	50
Толуол, 90 °С	10	0,5	30
Толуол, 90 °С	25	0,5	39
Толуол, 110 °С	6	5,0	54
Толуол, 110 °С	6	60	<30 ^{*2}
Толуол—пентанол-1, 1 : 1, 110 °С	6	0,5	71
Толуол—пентанол-1, 1 : 1, добавка Na ₂ S (0,1 моль/л), 110 °С	6	0,5	70

* Отношение радиоактивности соединения I* к радиоактивности всех меченых веществ в реакционной смеси.

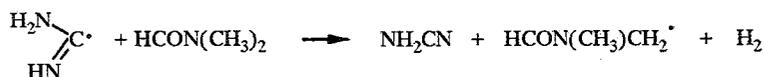
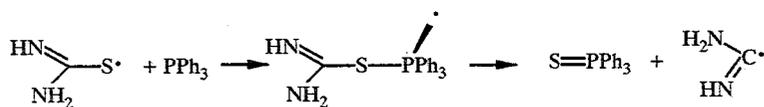
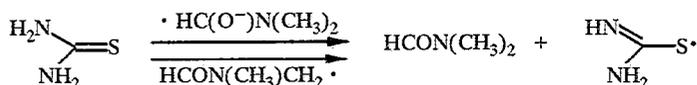
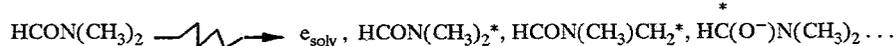
*2 Наблюдается образование большого числа побочных продуктов.

Несмотря на удовлетворительный выход соединения I*, его радиохимическая чистота оказалась низкой, а удаление радиоактивных примесей обычными методами (кристаллизация, экстракция и т. д.) было малоэффективным (чистота после нескольких кристаллизаций и очистки на колонке ВЭЖХ около 95%). Поэтому мы изучили возможность использования других сульфуровующих агентов. Известно [1, 9], что фосфины и фосфиты реагируют с тиолами и дисульфидами в присутствии

инициаторов радикальных процессов, образуя соответствующие тионоксиды. Реагент Лоуссона легко сульфуритует соединения трехвалентного фосфора [10], под его действием возможен также обмен атома кислорода группы P=O на атом серы в окисях фосфинов [11]. Однако в радиохимическом синтезе указанные методы сульфуритования производных трехвалентного фосфора мало пригодны, поскольку требуют трудоемкого и многостадийного предварительного синтеза меченых реагентов.

В настоящей работе мы исследовали применимость в качестве источника серы-35 при сульфуритовании фосфита III доступного и удобного реагента — [³⁵S]тиомочевины. В качестве модельной реакции мы изучили взаимодействие трифенилфосфина с тиомочевинной в различных условиях (в присутствии CCl₄ или инициаторов радикальных процессов, в толуоле и хлористом метиле, при комнатной температуре и при кипячении в течение 2...4 ч), анализируя реакционные смеси методом спектроскопии ЯМР ³¹P. Ранее PPh₃ в присутствии CCl₄ использовался [12] для обессеривания тиомочевин с целью получения карбодимидов, однако продукты превращения трифенилфосфина в этой реакции не были выделены. В настоящей работе во всех случаях было зафиксировано образование тиоокиси трифенилфосфина. Так, заметное его количество было обнаружено при кипячении эквимольных количеств PPh₃, CCl₄ и тиомочевины в хлористом метиле в течение 4 ч — было выделено 40% S=PPh₃. В присутствии азоизобутиронитрила (АИБН) реакция осложнена прямым взаимодействием тиомочевины с радикальными частицами, тем не менее S=PPh₃ был также обнаружен в реакционной смеси (до 10% по данным спектров ЯМР).

В настоящей работе мы впервые обнаружили, что тиомочевина, меченная серой-35, реагирует с PPh₃ с образованием [³⁵S]S=PPh₃. Реакция протекает при кипячении в смеси толуола и спирта (1 : 1). Скорость ее повышается с увеличением удельной радиоактивности тиомочевины, что указывает на определяющую роль авторадииолиза меченой тиомочевины в ее взаимодействии с PPh₃. Так, при удельной активности [³⁵S]тиомочевины 10,0 мКи/ммоль реакция достигает 50% глубины превращения приблизительно в 3 раза быстрее, чем при использовании реагента с удельной активностью 0,5 мКи/ммоль. Вероятно, реакция носит радикально-цепной характер и механизм ее по аналогии с радикальной реакцией между PPh₃ и тиолами [13] может быть представлен следующей последовательностью реакций, включающих образование тиильных и фосфоранильных радикалов. Мы провели радиационно-химическое моделирование этой необычной реакции и нашли, что тиомочевина и трифенилфосфин взаимодействуют и под действием γ-излучения. Анализ реакционных смесей проводили с помощью спектроскопии ЯМР ³¹P. Наиболее быстро процесс протекает в ДМФА (концентрация каждого реагента около 1 моль/л). При этом образуется около 2% тиоокиси на 100 рад внешнего γ-излучения. Условия радиационно-химического эксперимента подобны представленным в работе [14].



Наблюдается также реакция меченой тиомочевины с триэтилфосфитом и бициклофосфитом III, однако параллельно протекает алкилирование тиомочевины.

Хотя выход тиоокиси I* в реакции фосфита III с [³⁵S]тиомочевинной под действием авторадииолиза уступает выходу сульфурирования фосфита III элементной [³⁵S]серой, в то же время радиохимическая чистота продукта в первом случае оказалась существенно более высокой (более 98,5% после одной кристаллизации). Кроме того, его выделение и очистка оказались более удобными.

Методом тонкослойной радиохроматографии мы изучили зависимость радиохимической чистоты тиоокиси I* от условий ее хранения и различных стабилизирующих добавок (табл. 2).

Таблица 2

Зависимость радиохимической чистоты тиоокиси I* (0,010 Ки/ммоль) от условий хранения в растворах с радиоактивной концентрацией 0,5 мКи/мл

Растворитель	Температура, °С	Исходная радиохимическая чистота, %	Радиохимическая чистота, %	
			через месяц	через 3 месяца
Этанол	+20	98	92	80
Этанол	+5	98	90	80
Этанол	-20	98	98	94
Без растворителя	+5	98	96	90
5% ионола в этаноле	+5	98	98	95
Этанол	+5	95	80	менее 50
Этанол— <i>n</i> -ксилол, 1 : 1	-20	95	85	70
Без растворителя	+5	95	90	75
5% ионола (+PPH ₃) в этаноле	+5	95	90	85

Для определения радиохимической чистоты тиоокиси I* сопоставляли радиоактивность соответствующей ей хроматографической зоны с активностью всей хроматограммы.

В настоящей работе обнаружено (табл. 2), что наиболее эффективным средством ингибирования эффектов авторадииолиза тиоокиси I* помимо ее тщательной очистки перед хранением является стабилизирующая добавка ионола.

С целью сравнения устойчивости нами было синтезировано методом твердофазного гетерогенного изотопного обмена [15] соединение I, меченное тритием, с удельной активностью около 20 Ки/ммоль. После хроматографической очистки его радиохимическая чистота составляла более 98%. Мы обнаружили, что тиоокись [³H]-I весьма устойчива при хранении (в спирте и в смеси спирта с толуолом при 5 °С) в течение года, и лишь затем в качестве основной радиохимической примеси начинает образовываться лабильный тритий (не более 5...10% через год).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Контроль за радиохимической чистотой тиоокиси I*, а также определение состава продуктов его синтеза осуществляли методом радиохроматографии. Для этого пробу наносили на силикагельную пластинку Silufol, хроматограммы проявляли в системах 1—4 и фиксировали реактивом Гроте или парами иода. После проявления и фиксации зоны, соответствующие исходным меченым веществам и продуктам их превращения, вырезали и помещали во флаконы со сцинтилляционной жидкостью. Во всех случаях наблюдалось четкое разделение исходного вещества и продуктов реакции. Для определения чистоты тиоокиси I* сопоставляли радиоактивность соответствующей

ей хроматографической зоны с активностью всей хроматограммы, проводя анализ хроматограмм, проявленных в каждой из хроматографических систем 1—4. В некоторых случаях для разделения и идентификации продуктов реакции использовали нерадиоактивные носители (эталонные вещества), нанося их на силикагельную пластинку совместно с анализируемой пробой.

Система 1: бутанол—ацетон—муравьиная кислота, 1 : 0,8 : 1. Система 2: бензол—метанол, 2 : 1. Система 3: гексан—ацетон, 3 : 1. Система 4: вода—ДМФА, 5 : 1.

Измерение радиоактивности проводили на жидкостных сцинтилляционных счетчиках Mark-П и SL-4200, используя стандартные сцинтилляционные смеси (например, 4 г РРО и 0,2 г РОРОР на 1 л толуола). Спектры ПМР и ЯМР ^{31}P регистрировали на спектрометре Bruker СХР-200 (рабочая частота для ядер ^{31}P 81 МГц). В качестве стандартов использовали ТМС и 85% H_3PO_4 (внешний стандарт).

4-Этил-2,6,7-триокса-1-фосфабицикло[2,2,2]октан (III) получают в соответствии с методом [7] исходя из триметилпропана и триэтилфосфита. Выход 58%. $T_{\text{пл}} 56^\circ\text{C}$. $\delta^{31}\text{P}$ 93 м. д.

4-Этил-2,6,7-триокса-1-фосфабицикло[2,2,2]октан-1-тиооксид (IV). Раствор фосфита III (0,250 г; 1,5 ммоль) и 0,049 г (1,5 ммоль) элементарной серы кипятят в 5 мл толуола 6 ч. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают толуолом и сероуглеродом. Выход 82%. $T_{\text{пл}} 175\text{--}177^\circ\text{C}$. R_f 0,33 (система 2) и R_f 0,25 (система 4). $\delta^{31}\text{P}$ 68 м. д.

Синтез трифенилфосфинсульфида осуществляют двумя способами. А. Исходя из трифенилфосфина и элементарной серы, нагревая их смесь в толуоле. Выход 81%. $T_{\text{пл}} 158\text{--}159^\circ\text{C}$. $\delta^{31}\text{P}$ 42,9 м. д. Б. Исходя из PPh_3 , CS_2 и тиомочевины, нагревая их смесь в присутствии триэтиламина. Выход 40%. $T_{\text{пл}} 162^\circ\text{C}$. $\delta^{31}\text{P}$ 42,6 м. д.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мартынов И. В., Фетисов В. И., Соколов В. Б. // Итоги науки и техники. Сер. Орг. химия. — 1989. — Т. 11. — С. 1.
2. Comprehensive Heterocyclic Chemistry / Eds. A. R. Katritzky, C. W. Rees. — Pergamon Press, 1984. — Vol. 1. — Part 1. — P. 111.
3. Первухин Г. Я., Маслов А. А., Котельников С. А., Соколов В. Б., Фетисов В. И. // ДАН. — 1987. — Т. 293. — С. 736.
4. The RBI Handbook of Receptor Classification and Signal Transduction / Eds. K. J. Watling, J. W. Keblanian, J. L. Neumeier. — RBI. Natick USA, 1995. — P. 56.
5. Ткаченко С. Е., Фараджева С. В., Пушкин А. Н., Соколов В. Б. // Тез. докл. III Всесоюз. совещ. «Физиологически активные вещества, меченные радиоактивными и стабильными изотопами». — Москва, 1991. — С. 58.
6. Миклухин Г. П., Сулима Л. В., Мастрюкова Т. А., Кабачник М. И. // ДАН. — 1956. — Т. 106. — С. 848.
7. Wadsworth W. E., Emmons W. D. // J. Amer. Chem. Soc. — 1962. — Vol. 84. — P. 610.
8. Squires R., Casida J., Richardson M., Saederup E. // Mol. Pharmacol. — 1983. — Vol. 18. — P. 326.
9. Реакции и методы исследования органических соединений. Кн. 23. Реакции производных трехвалентного фосфора с электрофильными реагентами. — М.: Химия, 1973. — С. 31.
10. Забиров Н. Г., Черкасов Р. А., Халиков И. С., Пудовик А. Н. // ЖОХ. — 1986. — Т. 56. — С. 2673.
11. Horner L., Lindel H. // Phosphorus and Sulfur. — 1982. — Vol. 12. — P. 259.
12. Lukyanenko N. G., Kirichenko T. I., Limich V. V. // Synthesis. — 1986. — N 11. — P. 928.
13. Ингольд К., Робертс Б. // Реакции свободнорадикального замещения. — М.: Мир, 1974. — С. 141.
14. Ткаченко С. Е., Трофимова Т. П., Карпов Н. А., Федосеев В. М. // Радиохимия. — 1998. — Т. 40. — С. 146.
15. Зайцев Л. А., Золотарев Ю. А., Мясоедов Н. Ф. // ДАН. — 1990. — Т. 313. — С. 619.

Московский государственный университет
им. М. В. Ломоносова,
Москва 119899, Россия
e-mail: tkach@ipac.ac.ru

Поступило в редакцию 01.10.98