

Синтез меченых соединений с использованием меченых реагентов

© В. П. Шевченко, И. Ю. Нагаев, Н. Ф. Мясоедов

Институт молекулярной генетики РАН, Москва

Получено 27.01.2003

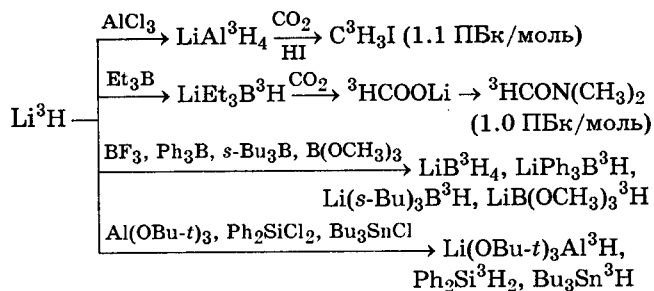
УДК 546.100.02.3:547.15/17

Рассмотрены методы введения трития восстановлением соответствующих предшественников комплексными тритидами металлов, конденсацией соответствующих предшественников с мечеными реагентами, а также химическим синтезом.

Основными направлениями синтеза тритиевых аналогов биологически активных соединений с использованием меченых реагентов считаются получение меченых препаратов с использованием тритидов металлов, конденсация соответствующих меченых предшественников с немечеными веществами, превращение одних меченых препаратов в другие химическими и биологическими методами. Это направление особенно широко развивается в последние годы, что связано с синтезом тритий-меченных агонистов и антиагонистов различных рецепторов, новых лекарственных препаратов для изучения их фармакокинетики и метаболизма. Эти соединения, как правило, являются сложными, лабильными веществами, синтез которых индивидуален. В данной работе мы попытались обобщить имеющуюся информацию по этой теме.

Введение метки восстановлением соответствующих предшественников комплексными тритидами металлов

В качестве комплексных тритидов металлов обычно используются боротритид натрия [1-7] и алюмотритид лития [8]. Современные методы синтеза этих препаратов заключаются или в выдерживании соответствующего борогидрида (лития, натрия, калия) в атмосфере трития при 270-500°C в течение 4-6 ч, или реакцией бутиллития с газобразным тритием в присутствии N,N,N',N'-тетраметилэтилендиамина, в результате которой образуется тритид лития, из которого можно синтезировать целый набор комплексных тритидов металлов и других меченых реагентов [9, 10].



Например, тритид лития, диспергированный в тетрагидрофуране, был обработан последовательно триэтилборатом и хлоридом три-*n*-бутилолова [11].

В результате был получен тритид три-*n*-бутилолова, который является прекрасным реагентом для дегалоидирования [11, 12].

Восстановлением соответствующих предшественников (содержащих альдегидные, кето-, карбоксигруппы и др.) перечисленными выше тритидами были синтезированы: (2*E*,6*E*)-3,7,11-триметил-2,6,10-[10-³H]додекатриен-1-ол ([10-³H]фарнезол) [7]; (2*E*,6*E*)-3,7,11-триметил-2,6,10-[10-³H]додекатриен-1-аль ([10-³H]фарнезаль) [7]; диэтил-ацеталь (2*E*)-4-гидрокси-[4-³H]нонен-1-аля [6]; 2-винил[1,1,3-³H]дигидросфингозин-1-фосфат [5]; гидрохлорид 3-(*S*)-амино-4-гидрокси-5-[5,5,6,6-³H]-тридецил-1-фосфониевой кислоты (фосфонатный аналог сфинганин-1-фосфата) [4]; а также ряд ³H-меченых стероидов [1-3], витаминов [13], производных инозитов [14].

Молярная радиоактивность используемого в экспериментах боротритида натрия была в пределах от 1 до 1700 ТБк/моль, а препаратов – от 0.2 до 450 ТБк/моль. Реакцию, как правило, вели в этанолсодержащих растворителях в течение 0.5-72 ч при 0 или 20°C. Затем избыток боротритида разлагали минеральной кислотой и продукт очищали хроматографией. Например, восстановлением этилового эфира 2(*R*)-амино-3(*R*)-гидрокси-4(*E*)-октадеценной кислоты в водно-спиртовом растворе при 0°C боротритидом натрия (14 ТБк/моль) получен *D*-эритро-[1,1-³H]сфингозин с молярной радиоактивностью 27 ТБк/моль [15], а восстановлением метилового эфира 20-оксо-8(*S*)-НхА₃ боротритидом натрия (740 ТБк/моль) получен метиловый эфир 20-гидрокси-8(*S*)-[20-³H]НхА₃ с молярной радиоактивностью 100 ТБк/моль [16].

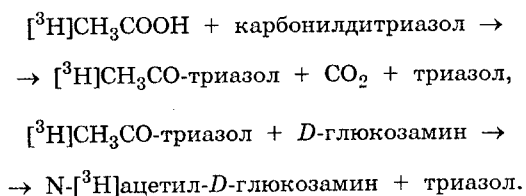
Таким образом, этот метод не может конкурировать с гидрированием или дегалоидированием с использованием газобразного трития по степени включения метки в биологически активные соединения, но он вполне приемлем для получения меченых препаратов как маркеров.

Введение метки конденсацией соответствующих предшественников с мечеными реагентами

Особенностью проведения реакций соответствующих предшественников с мечеными тритием

В качестве конденсирующего реагента также применяли карбонилдиимдазол, карбонилдитриазол, карбодиимиды. Например, при использовании карбонилдиимдазола синтезирован (1*R*,2*R*)-*N*-(2-(4-метилпиперидилметиленил)[4,5-³H]циклогексил)-4-амино-5-хлор-2-циклопропилметоксибензамид. Исходными соединениями в этом случае были (1*R*,2*R*)-1-амино-2-(4-метилпиперидилметиленил)[4,5-³H]циклогексан и 4-амино-5-хлор-2-циклопропилметоксибензойная кислота [25].

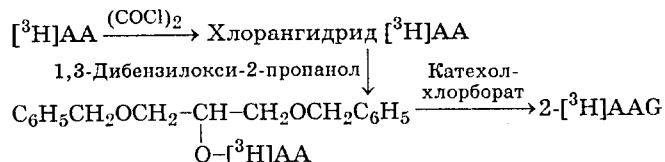
Проблема ацетилирования аминов немечеными реагентами не является сложной. Синтезы амидов с использованием уксусного ангидрида, хлорангидрида уксусной кислоты и т.д. хорошо известны и происходят с высоким выходом. Однако при синтезе меченых аналогов этих реагентов приходится сталкиваться с рядом трудностей, которые делают эти методики непривлекательными. Главная трудность заключается в высокой летучести этих реагентов. Только в специально оборудованной лаборатории, где исключается попадание меченых паров этих соединений в атмосферу, с ними можно работать. Кроме того, стоимость этих реагентов мешает их широкому применению. В отличие от них в ацетат натрия можно вводить метку непосредственно, он абсолютно нелетуч (т.пл. 324°C). Все это делает его крайне удобным для получения меченых амидов. Поэтому предложена методика использования в качестве ацетилирующего агента [³H]CH₃COONa [26]. Суть этого метода заключается в смешивании растворов меченого ацетата натрия с солянокислым аминсодержащем соединением, в результате чего образуется меченая уксусная кислота и хлористый натрий. После добавления конденсирующего агента ампулу запаивают и нагревают. Затем содержимое ампулы замораживают, перемораживают все летучие продукты, остаток растворяют в метаноле, подкисляют HCl и упаривают для удаления следов меченой уксусной кислоты. В качестве конденсирующего агента использовали дициклогексилкарбодиимид и карбонилдитриазол. Оптимальным оказалось использование карбонилдитриазола (выход меченого *N*-[³H]ацетил-*D*-глюкозамина достигал 15%):



Иногда меченые реагенты превращали в соответствующие хлорангидриды. Так синтезировали меченый антагонист тромбоксанового рецептора – (+)-*S*-145 [27]. Последний получали конденсацией метилового эфира (+)-(1*S*-[1α,2α(*Z*),3β,4α]-

7-(3-аминобицикло[2.2.1]гепт-2-ил)-5-гептената с [4-³H]бензол-сульфохлоридом (3.7 ГБк, 0.88 ПБк × моль⁻¹) при мольном соотношении немеченого компонента к меченому 43 : 1. Радиохимический выход в этих условиях достигал 80%. После щелочного омыления был получен искомый продукт с радиохимическим выходом 90%.

Синтез 2-[5,6,8,9,11,12,14,15-³H]арахидонилглицерина (2-[³H]AAG), необходимого для изучения каннабиноидных рецепторов, проводили по следующей схеме [28] (AA – арахидоновая кислота):



Получение меченых триглицеридов обычно также проводят конденсацией соответствующей меченой жирной кислоты с глицерином [29]. В этой работе рассмотрены различные методы получения таких соединений. Оптимальными условиями в проведенной автором серии экспериментов оказалось использование дициклогексилкарбодиимида в присутствии 4-диметиламинопиридина. Используя эту методику, проводя реакцию в 1,2-дихлорэтане и прибавляя бензольный раствор дициклогексилкарбодиимида в несколько приемов, удалось получать меченые триглицериды с выходом выше 90%. Этот метод позволяет получать и соответствующие стероидные эфиры.

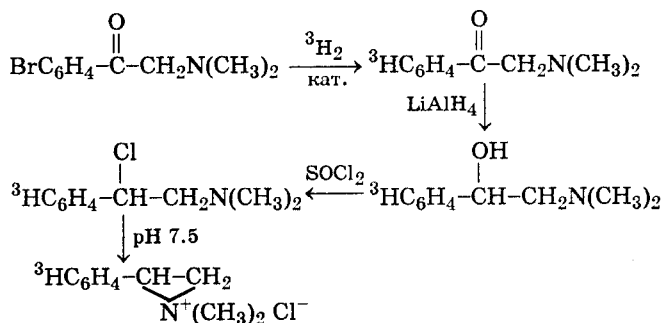
Конденсацией с 11-амино-[³H]ундекановой кислотой получены меченые аналоги фосфатидилхолина и сфингомиелина [30].

Таким образом, когда это возможно исходя из строения искомого вещества, метод конденсации с мечеными реагентами является наиболее технологически простым для получения высокомеченных препаратов из тех методов, которые рассматриваются в этой работе.

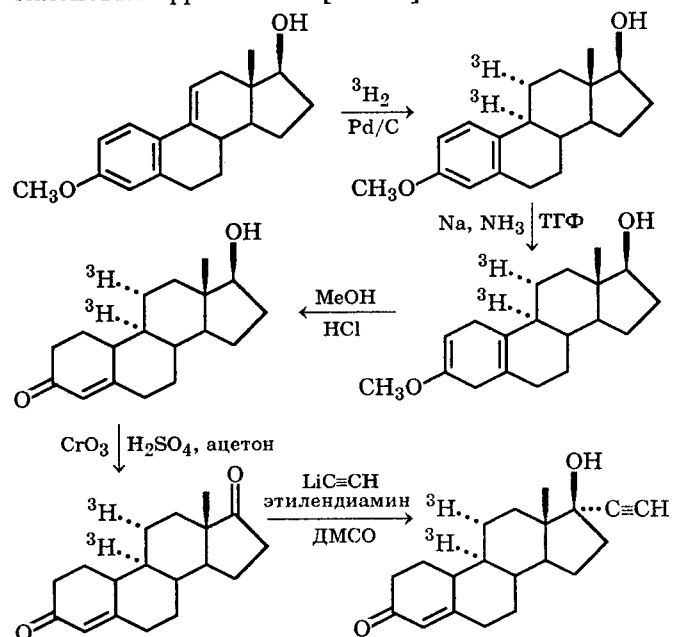
Введение метки химическим синтезом

Известно, что метку предпочтительно вводить на последних стадиях синтеза из-за соображений радиационной безопасности и с целью уменьшения количеств используемого, как правило, дорогостоящего меченого реагента. Но не всегда можно реализовать такой подход. Проиллюстрируем на примерах некоторые такие случаи.

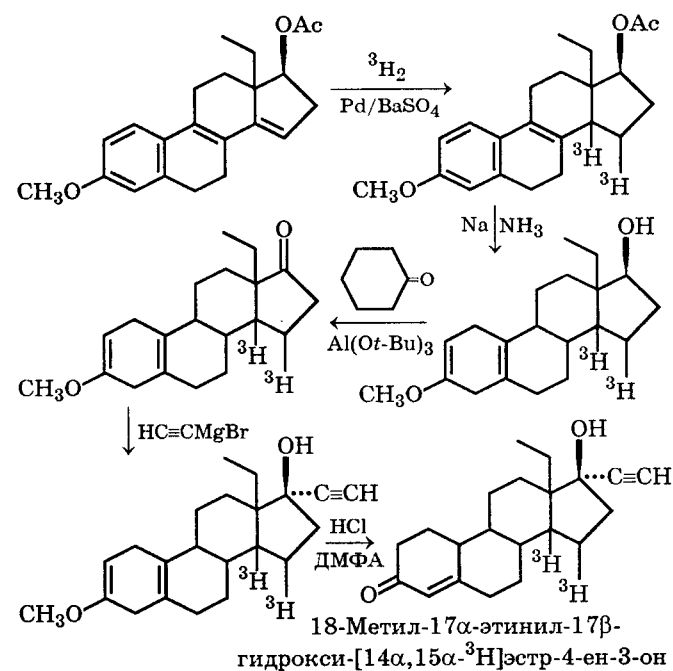
При получении *N,N*-диметил-2-[³H]фенилазирдинийхлорида, необходимого для изучения ингибирования ацетилхолинэстеразы, на первой стадии метку вводили дегалогенированием 2-(*N,N*-диметиламино)-4'-бромацетофенона, с последующим превращением меченого реагента в искомый продукт [22]:



Также только химическим синтезом могут быть получены меченые соединения, содержащие ацетиленовые фрагменты [14–16].



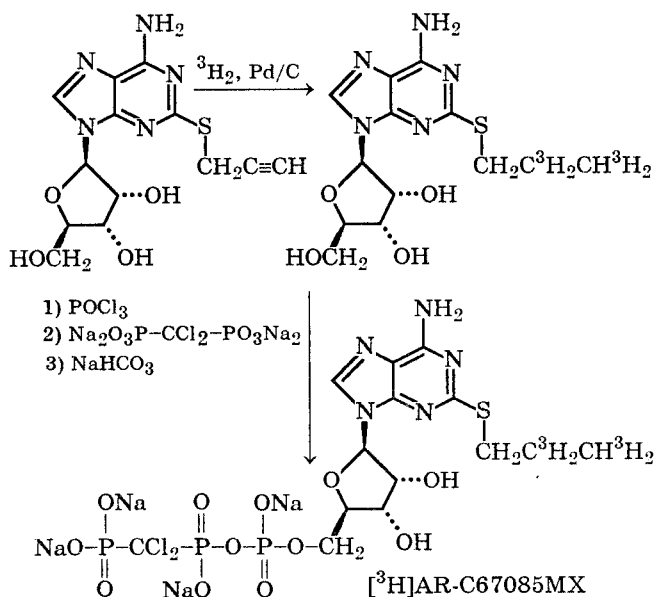
17α-Этил-19-[9,11-³H]нортестостерон



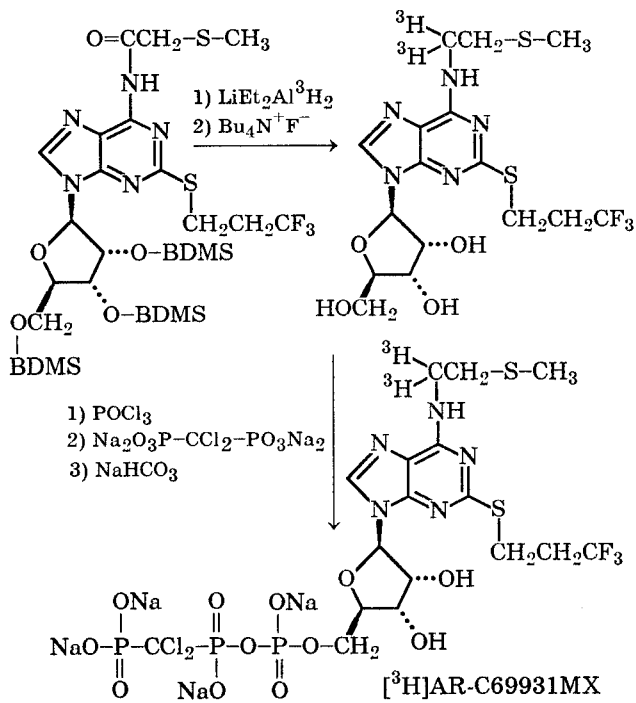
18-Метил-17α-этил-17β-гидрокси-[14α,15α-³H]эстр-4-ен-3-он

Приведенные схемы – хорошая иллюстрация возможностей химических подходов для введения метки в самые сложные меченые соединения, которые крайне лабильны при обработке газообразным тритием в присутствии катализатора. Кроме того, как видно из приведенных данных, с помощью химических методов образуются соединения с заданным распределением метки.

Недавно опубликованы многостадийные синтезы аналогов нуклеотидов, имеющих противотромбоцитную активность [31]. В этом случае лабильным фрагментом этого соединения является полифосфатный остаток:



[³H]AR-C67085MX



[³H]AR-C69931MX

ки, а также подбирали их наилучшее соотношение, чтобы скорость образования высокомеченых препаратов была максимальна. При проведении химических реакций для реализации той же задачи оптимизировали температуру, время реакции и концентрации немеченых реагентов.

Совокупность рассмотренных в настоящей работе данных позволяет сделать вывод, что, хотя перечисленные здесь методы введения метки (использование тритидов металлов, химический синтез и т.д.) могут быть применены только при определенных условиях, они играют исключительно важную роль в области получения меченых биологически активных соединений. Основные методы синтеза меченых препаратов (изотопный обмен, гидрирование, селективное гидрирование, дегалогидирование и селективное дегалогидирование и т.д.), безусловно, являются более технологичными, но они не позволяют, с одной стороны, быстро получить меченое соединение, если лаборатория не оборудована для работы с газообразным тритием, а с другой стороны, многие высокомеченные лабильные соединения можно приготовить только химическим или ферментативным синтезом.

Работа выполнена при финансовой поддержке Миннауки России «Установка для работы с мультиспектральными количествами газообразного трития» (регистрационный номер 96-03-04). Работа поддержана грантом «Физико-химическая биология».

Список литературы

- [1] Su X., Siddiqui A., Swaminathan S. et al. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1998. Vol. 40, N 1. P. 63-74.
- [2] Tait A. D. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1998. Vol. 40, N 3. P. 221-226.
- [3] Schabdach H., Schroder J., Seifert K. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1998. Vol. 40, N 4. P. 329-336.
- [4] Schick A., Schwarzmann G., Kolter T., Sandhoff K. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1997. Vol. 39, N 5. P. 441-451.
- [5] Boumendjel A., Miller S. P. F. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1995. Vol. 36, N 4. P. 377-383.
- [6] Bravais F., Rao D., Alary J. et al. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1995. Vol. 36, N 5. P. 471-477.
- [7] Sen S. E., Garvin G. M. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1995. Vol. 36, N 11. P. 1063-1069.
- [8] Dischino D. D., Combrink K. D., Doweiko L. et al. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1995. Vol. 36, N 8. P. 789-799.
- [9] Than C., Morimoto H., Andres H., Williams P. G. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1996. Vol. 38, N 8. P. 693-702.
- [10] Liu Y.-Y., Chen L. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1996. Vol. 38, N 1. P. 71-76.
- [11] Wichmann J., Huguenin Ph., Adam G. // J. Label. Comp. Radiopharm. 2000. Vol. 43, N 1. P. 1-10.
- [12] Su X., Wilson W. K., Schroeffer G. J. Jr. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1999. Vol. 42, N 6. P. 509-518.
- [13] Watanabe H., Kawase A., Okano K. et al. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1999. Vol. 42, N 6. P. 519-526.
- [14] Шевченко В. П., Хагаев И. Ю., Мясоедов Н. Ф. Меченные тритием липофильные соединения. М.: Наука, 2003. 246 с.
- [15] Li Sh., Pang J., Wilson W. K., Schroeffer G. J. Jr. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1999. Vol. 42, N 9. P. 815-826.
- [16] Demin P. M., Vasiljeva L. L., Kochev D. M. et al. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1999. Vol. 42, N 8. P. 773-780.
- [17] Mais D. E., Chen L.-Z., Wagoner M. A. et al. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1995. Vol. 36, N 12. P. 1199-1203.
- [18] Nagamura S., Kinugawa M., Ogasa T., Saito H. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1997. Vol. 39, N 6. P. 471-478.
- [19] Watanabe H., Akiyama M., Kawanishi T., Kubodera N. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1995. Vol. 36, N 7. P. 645-654.
- [20] Tadikonda P. K., Lacy J. M., Rigdon M. G., DeLuca H. F. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1997. Vol. 39, N 1. P. 1-10.
- [21] Margonelli A., Angelini G., Pompili M. L. et al. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1999. Vol. 42, N 1. P. S790-S792.
- [22] Хагаев И. Ю., Шевченко В. П., Мясоедов Н. Ф. // Радиохимия. 1999. Т. 41, N 4. С. 289-299.
- [23] Шевченко В. П., Хагаев И. Ю., Потапови А. В., Мясоедов Н. Ф. // Радиохимия. 1995. Т. 37, N 3. С. 265-269.
- [24] Рогов С. И., Шевченко В. П., Хагаев И. Ю. и др. // Радиохимия. 1997. Т. 39, N 5. С. 458-463.
- [25] Шевченко В. П., Хагаев И. Ю., Мясоедов Н. Ф. // Радиохимия. 1998. Т. 40, N 1. С. 79-83.
- [26] Шевченко В. П., Хагаев И. Ю., Мясоедов Н. Ф. // Третья Рос. конф. по радиохимии «Радиохимия 2000»: Тез. докл. СПб, 2000. С. 255.
- [27] Nagasaki T., Watanabe F., Katsuyama Y. et al. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1992. Vol. 31, N 1. P. 23-38.
- [28] Margonelli A., Angelini G., Attina M. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1999. Vol. 42. P. S787-S789.
- [29] Elbert T. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1989. Vol. 27. P. 107.
- [30] Водовозова Е. Л., Шевченко В. П., Молотковский Ю. Г., Бергельсон Л. Д. // Биоорг. химия. 1984. Т. 10, N 12. P. 1698-1699.
- [31] Coombs M. E., Kingston L. P., Lockley W. J. S. et al. // Seventh Int. Symp. «The Synthesis and Applications of Isotopes and Isotopically Labelled Compounds»: Abstracts. Dresden (Germany), 2000. P. 50.
- [32] Шевченко В. П. Дис. ... д-ра хим. наук. М.: ИМГ РАН, 1992.