

СИНТЕЗ МЕЧЕННОЙ ТРИТИЕМ ДЕЗОКСИГЛЮКОЗЫ И ЕЁ ПРОИЗВОДНОГО

© 2020 г. Г. В. Сидоров*, Н. Ф. Мясоедов

Институт молекулярной генетики РАН, 123182 Москва, пл. акад. Курчатова, д. 2

* e-mail: sidgv@img.ras.ru

Получена 24.12.2018; после доработки 25.03.2019; принята к публикации 26.03.2019

Изучена реакция твердофазного каталитического гетерогенного изотопного обмена 2-дезоксид-глюкозы и её производного – O(6)-(4-бромтиофенил)гуанин-С8-β-*D*-глюкозы – с тритием. Показано, что проведение реакции твердофазного каталитического изотопного обмена в относительно мягких условиях при 110–120°C дает возможность синтезировать довольно лабильные соединения, меченные тритием, такие как 2-дезоксид-глюкоза и O(6)-(4-бромтиофенил)гуанин-С8-β-*D*-глюкоза. Молярная радиоактивность полученных соединений составила 6.1 и 7.9 Ки/ммоль соответственно.

Ключевые слова: тритий, изотопный обмен, 2-дезоксид-глюкоза, O(6)-(4-бромтиофенил)гуанин-С8-β-*D*-глюкоза

DOI: 10.31857/S0033831120020100

ВВЕДЕНИЕ

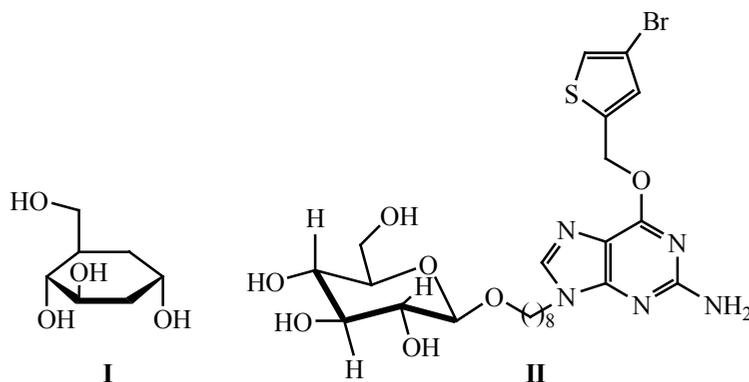
Для синтеза меченных тритием 2-дезоксид-глюкозы и её производного – O(6)-(4-бромтиофенил)гуанин-С8-β-*D*-глюкозы – изучали влияние температуры и катализаторов на выход и молярную радиоактивность в реакции твердофазного каталитического гетерогенного изотопного обмена (ТКГИО) с тритием. Ранее нами была изучена реакция ТКГИО с гексозами [1]. Однако для 2-дезоксигексоз подобные исследования не проводили.

Большинство работ, посвященных введению трития в гексозы, относится к изучению различных реакций в растворе. В работе [2] авторами была исследована подвижность атомов 1-Н углеводов в реакциях гетерогенного изотопного обмена в фосфатном и боратном буфере и показано, что она изменяется в ряду 2-дезоксид-*D*-рибоза > 2-дезоксид-*D*-глюкоза > *D*-глюкозамин > *D*-галактозамин > *D*-ксилоза > *D*-рибозо-5-фосфат > *D*-ликсоза > *L*-арабиноза > *D*-рибоза > *D*-галактоза > *D*-манноза > *D*-глюкоза > *L*-фукоза > *L*-рамноза > *D*-глюкозо-6-фосфат. Авторы полагают, что различная подвижность атомов 1-Н в углеводах объясняется концентрацией ациклических форм углеводов в растворе.

Восстановление соответствующих предшественников тритийсодержащим боргидридом

является общим методом введения трития в карбогидраты, в частности в гексозы. В работе [3] приведена методика получения меченной тритием [6-³H]*D*-глюкозы (18 Ки/моль) восстановлением 1,2-*O*-изопропилиден-*D*-глюкуроно-6,3-лактона LiB³H₄ (40 Ки/моль) в безводном тетрагидрофуране. Описано получение [3-³H]*D*-глюкозы восстановлением 1,2:5,6-ди-*O*-изопропилиден-α-*D*-рибогексофурано-3-улозы NaB³H₄ в тетрагидрофуране в течение 3 ч [4]. 2-Дезоксид-*D*-[2-³H]глюкоза была получена восстановлением *D*-гликала (1,5-ангидро-2-дезоксид-*D*-арабиногекс-1-енитола), растворенного в 1 мл тритиевой воды (50 мКи) с добавлением 0.05 мл концентрированной серной кислоты. Удельная активность полученного соединения составила 24 мКи/моль. Удельная радиоактивность гексоз, получаемых этими методами, ограничена удельной радиоактивностью источников трития – тритиевой воды или боргидрида – и редко достигает величин порядка единиц Ки/ммоль. Была синтезирована 2-дезоксид-*D*-глюкоза [2,6,6'-³H] из производных бромдезоксиглюкозы [4]. Смесь 2-бромпроизводного *D*-глюкопиранозида и *D*-маннопиранозида восстанавливали в растворе метанола в присутствии палладиевого катализатора в атмосфере газообразного трития. Затем

Схема 1.



полученную смесь восстанавливали KB^3H_4 в растворе *трет*-бутанола. После гидролиза раствором 1 моль/л HCl была получена 2-дезоксид-*D*-глюкоза с очень высокой удельной активностью 50 Ки/ммоль. Методика довольно трудоемка, но позволяет достичь высокой степени включения изотопа. С нашей точки зрения универсальным способом введения трития в карбогидраты является реакция изотопного обмена без растворителя.

Следует отметить, что термическая устойчивость дезоксисахаров существенно ниже аналогичной в случае рибопроизводных. О(6)-(4-бромтиофенил)гуанин-С8- β -*D*-глюкоза содержит атом брома, который в реакции с тритием может быть замещен. Селективное введение трития в реакции ТКГИО, не затрагивая другие функциональные группы, было продемонстрировано в работах [5, 6] при синтезе меченных тритием *транс*-зеатина и изопентениладенина соответственно. С учетом этого изучение реакции ТКГИО с тритием проводили в относительно мягких условиях в диапазоне температур 100–140°C. Для сниже-

Таблица 1. Влияние катализаторов и температуры на реакцию ТКГИО 2-дезоксид-*D*-глюкозы тритий-протиевой смесью (1 : 500 по объему). Продолжительность 20 мин

Номер опыта	Катализатор	$T, ^\circ\text{C}$	Меченая 2-DG	
			выход, %	молярная активность, Ки/моль
1	А	130	46	19
2	Б	130	7.0	33
3	В	130	7.0	74
4	В	120	15	40
5	В	130	5	88
6	В	140	<1	217

ния термической деструкции соединений в состав твердой фазы вводили инертный носитель – сульфат бария.

Целью настоящей работы являлось изучение ТКГИО с тритием и синтез меченных тритием 2-дезоксид-*D*-глюкозы и О(6)-(4-бромтиофенил)гуанин-С8- β -*D*-глюкозы с высокой молярной радиоактивностью.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Структуры исследуемых соединений приведены на схеме 1.

Все соединения были коммерческими препаратами. Применяли катализаторы: А – 10% Pd/BaSO_4 (Fluka), Б – 5% Pd/BaSO_4 (Fluka), В – 5% Pd/CaCO_3 (Aldrich). В качестве инертного носителя использовали сульфат бария (удельная поверхность) 19 $\text{m}^2/\text{г}$. Подготовка реакционной смеси аналогична описанной в работе [1]. Поскольку О(6)-(4-бромтиофенил)гуанин-С8- β -*D*-глюкоза (BTG) нерастворима в воде, нанесение проводили из спиртового раствора.

Радиоактивность измеряли на жидкостном сцинтилляционном счетчике Triathler (Финляндия), используя сцинтилляционную жидкость EcoLM TM (ICN).

Пластинки после проведения тонкослойной хроматографии опрыскивали сцинтиллятором и просчитывали на сканере по радиоактивности. Величину R_f рассчитывали по отношению времени детекции «пика» по радиоактивности к времени сканирования хроматограммы от старта до фронта.

Выделение и очистку 2-дезоксид-*D*-глюкозы проводили методом ВЭЖХ на колонке Диасфер-110

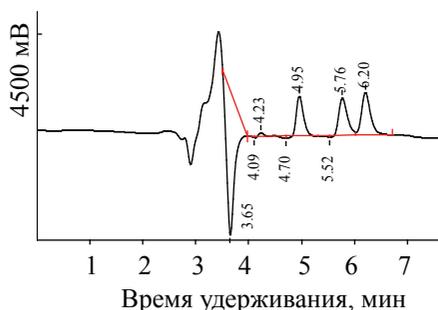


Рис. 1. Кривая элюции при выделении меченной тритием 2-дезоксид-*D*-глюкозы из реакционной смеси. Диасфер-110 аминдиол, $4,6 \times 250$ мм, подвижная фаза – ацетонитрил–вода (80 : 20 по объёму) 1.0 мл/мин.

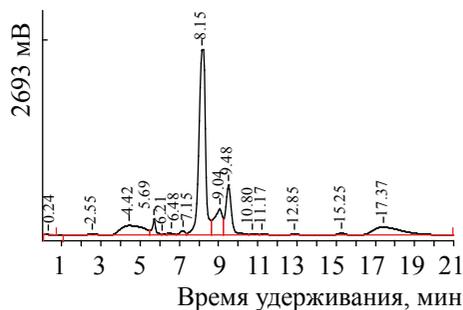


Рис. 2. Анализ чистоты меченной тритием 2-дезоксид-*D*-глюкозы. Silulfol, *трет*-бутанол–ацетон–вода–муравьиная кислота (44 : 44 : 11 : 0.3 по объёму).

аминдиол, $4,6 \times 250$ мм, подвижная фаза – ацетонитрил–вода (80 : 20 по объёму), 1.0 мл/мин. Время удерживания – 5.76 мин. Детектором служил проточный рефрактометр LKB-2142. Анализ проводили методом тонкослойной радиохроматографии на пластинках Silufol в системе растворителей *трет*-бутанол–ацетон–вода–муравьиная кислота (44 : 44 : 11 : 0.3 по объёму), $R_f = 0.44$.

Выделение и очистку ВТГ проводили на колонке Reprosil-Pur C18 AQ 10 мкм, 250×10 мм с предколонкой 50×10 мм., подвижная фаза ацетонитрил–вода (60 : 40 по объёму), 2.0 мл/мин. Время удерживания 8.15 мин. Использовали проточный УФ детектор с переменной длиной волны Spectra-Physics 8480, детекция при 282 нм. Анализ проводили методом тонкослойной радиохроматографии на пластинке с целлюлозой-F (Merck) в системе растворителей бутанол–уксусная кислота–вода (2 : 1 : 1 по объёму), $R_f = 0.42$.

Изучение реакции ТКГИО проводили в среде тритий-протиевой смеси (1 : 200 по объёму).

Таблица 2. Влияние катализаторов и температуры на реакцию ТКГИО O(6)-(4-бромтиофенил)гуанин-С8-β-*D*-глюкозы (ВТГ) с тритий-протиевой смесью (1 : 200 по объёму)

Номер опыта	T , °С (катализатор)	Молярная активность, Ки/моль	Выход, %	Продолжительность, мин
7	100 (А)	1.4	54	20
8	110 (А)	4.9	23	20
9	120 (А)	2.0	7,3	20
10	140 (А)	3.6	3,0	20
11	110 (Б)	9.6	18	10
12	110 (Б)	13.5	15	20
13	110 (Б)	26	9	30
14	120 (Б)	1.6	2,6	20
15	110 (В)	12.0	3,1	20

Синтез меченых препаратов осуществляли в среде трития с концентрацией 90–95%.

Реакция ТКГИО. В стеклянную ампулу объёмом 5 см^3 помещали твердую смесь, состоящую из носителя, препарата и катализатора. Ампулу присоединяли к установке для работы с газообразным тритием, вакуумировали и вводили газ до давления 300 мм рт.ст. Ампулу термостатировали при выбранной температуре, охлаждали и удаляли из ампулы избыток непрореагировавшего газа, продукты реакции смывали водой (этанолом в случае ВТГ), отделяли катализатор центрифугированием, растворитель отгоняли в вакууме досуха для очистки от лабильного трития, растворяли продукты реакции в подвижной фазе и проводили очистку.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

В табл. 1 приведены результаты изучения влияния катализаторов и температуры на реакцию ТКГИО 2-дезоксид-*D*-глюкозы (2-DG) с тритием. Из данных табл. 1. видно, что при проведении реакции в сравнимых условиях (опыты 1, 2,

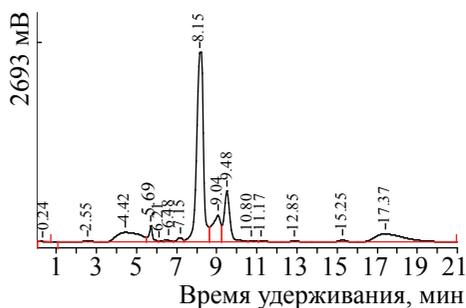


Рис. 3. Кривая элюции при выделении меченной тритием O(6)-(4-бромтиофенил)гуанин-C8-β-D-глюкозы из реакционной смеси. Reprosil-Pur C18 AQ 10 мкм, 250×10 мм с предколонкой 50×10 мм, подвижная фаза – ацетонитрил–вода (60 : 40 по объёму), 2.0 мл/мин.

3 и 5) наиболее активным является катализатор В. Проведение реакции при 120°C позволяет достичь оптимального соотношения выхода и молярной радиоактивности меченной тритием 2-дезоксид-глюкозы.

В условиях опыта № 4 был проведен препаративный синтез меченной тритием 2-дезоксид-глюкозы. Кривая элюции при выделении 2-дезоксид-глюкозы из реакционной смеси приведена на рис. 1. Фракции, отвечающие времени удерживания 5.76 мин, объединяли, упаривали досуха при 37°C и растворяли в смеси этанол–вода (1 : 1) до радиоактивной концентрации 1.0 мКи/мл. Был получен препарат меченной тритием 2-дезоксид-глюкозы с молярной радиоактивностью 6.1 Ки/ммоль. Чистота полученного препарата, определенная методом тонкослойной радиохроматографии, оказалась равной 99.6% (рис. 2).

В табл. 2 приведены результаты изучения влияния катализаторов и температуры на реакцию ТКГИО ВТГ с тритием.

Из полученных данных видно, что в сравнимых условиях (опыты 8, 11 и 12, 15) наиболее активными являются катализаторы Б и В. Однако выход целевого соединения выше в случае катализатора Б. Оптимальными были выбраны условия опыта 12.

Был проведен препаративный синтез меченной тритием ВТГ с высокопроцентным тритием в условиях опыта 12 (табл. 2). Кривая элюции при выделении меченной тритием ВТГ из реакционной смеси приведена на рис. 3. Препарат, отвечающий времени удерживания 8.15 мин, упаривали досуха при 37°C и растворяли в смеси этанол–вода

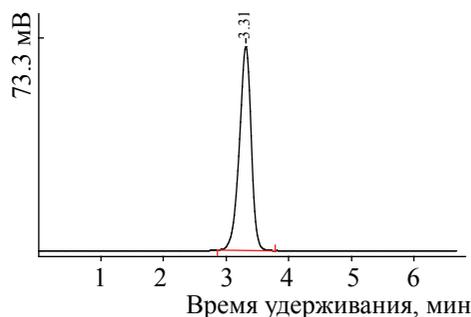


Рис. 4. Анализ чистоты меченной тритием O(6)-(4-бромтиофенил)гуанин-C8-β-D-глюкозы. Целлюлоза-F (Merck). Бутанол–уксусная кислота–вода (2 : 1 : 1 по объёму).

(1 : 1) до радиоактивной концентрации 1.0 мКи/мл. Был получен препарат меченной тритием O(6)-(4-бромтиофенил)гуанин-C8-β-D-глюкозы с молярной радиоактивностью 7.9 Ки/ммоль. Чистота полученного препарата, определенная методом тонкослойной радиохроматографии, оказалась равной более 98% (рис. 4).

Таким образом, проведение реакции твердофазного каталитического изотопного обмена в относительно мягких условиях при 110–120°C дало возможность синтезировать довольно лабильные соединения, меченные тритием, такие как 2-дезоксид-глюкоза и O(6)-(4-бромтиофенил)гуанин-C8-β-D-глюкоза. При этом удалось провести реакцию с сохранением атома брома в исходном соединении. Молярная радиоактивность полученных соединений оказалась довольно высокой.

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Баитов А.А., Сидоров Г.В., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 2010. Т. 52, № 5. С. 469.
2. Акулов Г.П., Снеткова Е.В., Каюмов В.Г., Каминский Ю.Л. // Радиохимия. 1987. Т. 29, № 5. С. 666.
3. Isbell H.S., Frush H.L., Moyer J.D. // J. Res. Natl. Bur. Stand. A: Phys. Chem. 1960. Vol. 64A, N 4. P. 359.
4. Deschamps J., Rousseau B., Beaucourt J.P. // J. Label. Compd. Radiopharm. 1988. Vol. 25, N 11. P. 1281.
5. Сидоров Г.В., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 2006. Т. 48, № 5. С. 465.
6. Сидоров Г.В., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 2015. Т. 57, N 1. С. 94.