



УДК 547.514.722'15'17.6.057

ИОДИРОВАНИЕ
ДИАЗОЦИКЛОПЕНТАДИЕН-2-КАРБОНИЛЬНОЙ ГРУППЫ© 1998 г. Е. Л. Водовозова, Е. В. Цибизова, Ю. Г. Молотковский[#]Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10

Поступило в редакцию 18.12.97 г. Принято к печати 22.12.97 г.

Фотореактивная диазоциклопентадиен-2-карбонильная (Dcp) группа легко иодируется в окислительных условиях в положения 4 и 5 с образованием моно- и диодпроизводных. При фотолизе метил-11-(Dcp-окси)ундеканата в циклогексане происходит частичная ковалентная пришивка зонда к растворителю, что свидетельствует о способности соответствующего карбена внедряться в обычные C–H-связи. Предполагается, что Dcp-группа как эффективная фотореактивная метка, пригодная к введению радиоизотопа (¹²⁵I) на последней стадии перед использованием, найдет применение для мечения субстратов небольшой молекулярной массы.

Ключевые слова: диазоциклопентадиен-2-карбонильная метка; радиоактивное иодирование; фотореактивное мечение.

Фотореактивные (фотоаффинные, фотоактивируемые) зонды широко применяются для изучения биологических систем (см. обзоры [1–3]). Зонд также должен содержать радиоактивную метку. Для повышения чувствительности метода, что весьма актуально, требуется применение высокоактивных изотопов (³²P, ¹²⁵I), но зонд с такой радиометкой недолговечен и должен быть использован сразу после приготовления. Очевидный выход из этого затруднения – синтез “холодного” фотореактивного зонда, который может сохраняться долго и в который радиометку можно ввести прямо перед опытом. Желательно также провести радиомечение по самой фотореактивной группе, что весьма облегчает последующий анализ продуктов сшивки и определение их строения масс-спектрометрическими методами. На сегодняшний день наиболее подходящим для этих целей изотопом можно считать ¹²⁵I, который вводится в ароматическое ядро, активированное электронодонорным заместителем, путем окислительного иодирования. В реакцию при этом вступает иод-катион I⁺, образующийся при окислении иодида подходящим агентом (гипохлорит, хлорамин Т [4], H₂O₂ + лактопероксидаза (пероксидаза, КФ 1.11.1.7) [5] и др.). Разработаны методы функционализации ряда фотореактивных групп, например бензофеноновой [6] и трифтор-

метилдизаиринфенильной [7], позволяющие вводить в них ¹²⁵I, однако эти модификации значительно усложняют синтез меток и зондов.

Ранее нами был разработан синтез липидных зондов с диазоциклопентадиен-2-карбонильной (Dcp) меткой, которая при фотолизе образует карбен, способный эффективно внедряться в неактивированные C–H-связи [8]; Dcp-зонды были с успехом применены нами для исследования мембранной топографии цитохрома P-450 [9]. При дальнейшем исследовании свойств Dcp-метки мы нашли, что она может быть легко иодирована в условиях окислительного процесса; в реакцию одиваково легко вступает как сама исходная кислота (Ia), так и ее производные. Способность диазоциклопентадиена вступать в реакции электрофильного замещения известна [10], однако прямое галогенирование Dcp-производных до сих пор не описано.

Оптимальные результаты иодирования дал метод Маркуэл с применением иодистого натрия и полимерных шариков Iodobeads (Pierce, США), несущих N-хлорсульфонамидофенильные группировки; Маркуэл полагает, что иодирующим агентом в этом случае служит N-иодсульфонамид [11]. Иодирование Dcp-производных в метаноле проходит с образованием смеси продуктов моно- (I) и ди- (II) иодирования циклопентадиенильного кольца – в положения 4 и 5 (см. схему). Это хорошо прослеживается по спектрам ¹H-ЯМР: метиловый эфир (МЭ) 11-(Dcp-окси)ундекановой

[#]Автор для переписки.

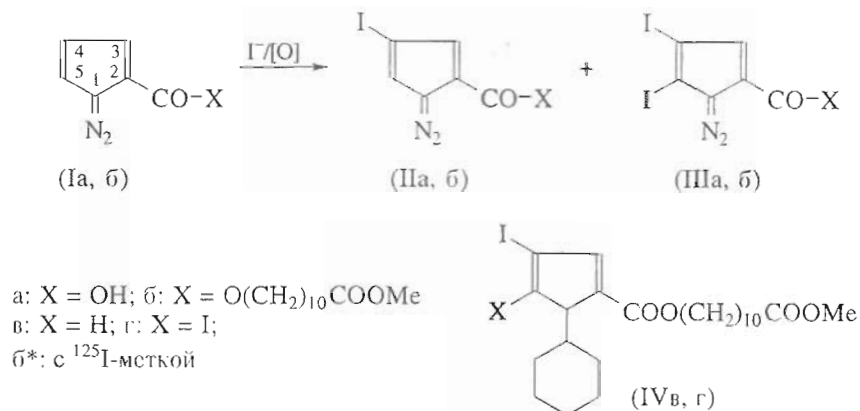


Схема.

кислоты (Iб) (протоны цикла: H₄ – δ 6.06 дд, $J_{4,5}$ 4.6 и $J_{4,3}$ 3.0 Гц; H₃ – δ 6.82 дд, $J_{3,4}$ 3.0 и $J_{3,5}$ 2.0 Гц; H₅ – δ 7.02 дд, $J_{5,4}$ 4.6 и $J_{5,3}$ 2.0 Гц; ср. [10, 12]) при иодировании дал смесь, 1 : 2 (моль/моль), моноиодида (IIб) (H₃ – δ 6.82 д, $J_{3,5}$ 2.0 Гц; H₅ – δ 7.13 д, $J_{5,3}$ 2.0 Гц) и диодида (IIIб) (H₃ – δ 6.86 с). Указанные структуры подтверждаются и масс-спектрометрическими данными. Иодирование сопровождается также изменениями в УФ-спектре: $\lambda_{\text{макс}}$ 312 нм (ϵ 15000, этанол) МЭ кислоты (Iб) после иодирования в смесь эфиров (IIб + IIIб) смещается в длинноволновую область, $\lambda_{\text{макс}}$ 326 нм (ϵ 16700).

Существен и вопрос об устойчивости ¹²⁵I-метки в ходе фотолиза: если при этом метка отщепляется, как это отмечено для некоторых иодарил-азидов [13], то предлагаемый метод едва ли приемлем. После фотолиза меченного ¹²⁵I эфира (IIб* + IIIб*) в циклогексане, легко протекающего при облучении светом с $\lambda > 300$ нм [8], смесь продуктов тщательно промыли водным NaHSO₃. В водной фазе было обнаружено менее 3% исходной радиоактивности, что говорит о хорошей устойчивости радиометки в условиях фотолиза. После аналогичного фотолиза нерадиоактивного зонда (IIб + IIIб) из полученной смеси была выделена смесь моноиодида МЭ 11-(2-циклогексилциклопентадиенкарбонилокси)ундекановой кислоты (IVв) (в масс-спектре с ионизацией ²⁵²Cf: m/z 514 [$M - 3$]⁺ и 458 [$M - \text{COOMe}$]⁺) и диодида (IVг) (m/z 642 [$M - 2$]⁺ и 582 [$M - \text{COOMe} - 3$]⁺). Это указывает на то, что после иодирования карбен, генерируемый Дср-группой, не теряет способности внедряться в неактивированные С–Н-связи.

Таким образом, Дср-группа, будучи собственно фотореактивной меткой небольшого размера, одновременно служит и носителем радиоизотопа (¹²⁵I), который легко ввести на последней стадии синтеза. Мы полагаем, что эта группа может най-

ти значительное применение, особенно для мечення молекул малой величины (липиды, пептиды небольшого размера и т.п.).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Fleming S.A. // Tetrahedron. 1995. V. 51. P. 12479–12520.
2. Hatanaka Y., Nakayama H., Kanaoka Y. // Rev. Heteroatom Chem. 1996. V. 14. P. 213–243.
3. Feldwisch J., Vente A., Campos N., Zettl R., Palme K. // Meth. Cell Biol. 1995. V. 50. P. 51–60.
4. Greenwood F.C., Hunter W.M., Glover J.S. // Biochem. J. 1963. V. 89. P. 114–123.
5. Bayse G.S., Morrison M. // Arch. Biochem. Biophys. 1971. V. 145. P. 143–148.
6. Wilson C.J., Husein S.S., Stimson E.R., Dangott L.J., Miller K.W., Maggio J.E. // Biochemistry. 1997. V. 36. P. 4542–4551.
7. Weber T., Brunner J. // J. Am. Chem. Soc. 1995. V. 117. P. 3084–3095.
8. Карюхина М.О., Молотковский Ю.Г., Бергельсон Л.Д. // Биоорганическая химия. 1988. Т. 14. С. 1256–1261.
9. Uvarov V.Yu., Sotnichenko A.I., Vodovozova E.L., Molotkovsky J.G., Kolesanova E.F., Lyulkin Yu.A., Stier A., Krueger V., Archakov A.I. // Eur. J. Biochem. 1994. V. 222. P. 483–489.
10. Cram D.J., Partos R.D. // J. Am. Chem. Soc. 1963. V. 85. P. 1273–1277.
11. Markwell M.A.K. // Anal. Biochem. 1982. V. 125. P. 427–432.
12. Martin J.C., Bloch D.R. // J. Am. Chem. Soc. 1971. V. 93. P. 451–459.
13. Watt D.S., Kawada K., Leyva E., Platz M.S. // Tetrahedron Lett. 1989. V. 30. P. 899–902.

The Iodination of Diazocyclopentadiene-2-carbonyl Substituent

E. L. Vodovozova, E. V. Tsibizova, and Jul. G. Molotkovsky

*Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia*

Compounds with the photoaffinity diazocyclopentadiene-2-carbonyl (Dcp) substituent were iodinated to form 4-mono- and 4,5-diiiododerivatives bearing both ^{127}I and ^{125}I under oxidative conditions. A photolysis of the iodinated methyl 11-(Dcp-oxy)undecanoate in cyclohexane resulted in partial covalent binding of the probe to the solvent. This showed that the corresponding intermediate carbene is capable of insertion into nonactivated C-H bonds. We suppose that the Dcp-group with ^{125}I introduced immediately before use is an efficient photoactive label and will find wide use for labeling low molecular mass compounds.

Key words: diazocyclopentadiene-2-carbonyl label, radioiodination, photoaffinity labeling