



УДК 546.110.23:547.15117.39

**СИНТЕЗ МЕЧЕННЫХ ТРИТИЕМ СОЕДИНЕНИЙ
ЛИПИДНОЙ ПРИРОДЫ**© 1999 г. В. П. Шевченко[#], И. Ю. Нагаев

Институт молекулярной генетики РАН, 123182, Москва, пл. Курчатова, 46

Поступила в редакцию 30.11.98 г. Принята к печати 22.02.99 г.

Рассмотрены достижения в области получения меченных тритием соединений липидной природы и фармпрепаратов. Показано, что для введения метки в ненасыщенные соединения желательнее использовать жидкофазные методы: изотопным обменом с газообразным тритием возможно получение препаратов с мольной радиоактивностью порядка 0.1 ПБк/моль, а тритированием или селективным тритированием кратных связей – 1–2 ПБк/моль в расчете на одну восстановленную связь. Для насыщенных соединений наиболее подходят твердофазные методы введения метки при температурах выше 100°C. Для лабильных (в условиях обработки их газообразным тритием) соединений можно использовать изотопный обмен с тритиевой водой или химические методы, если требуются меченные препараты с мольной радиоактивностью до нескольких ПБк/моль.

Ключевые слова: тритий; радиоактивно меченные соединения; синтез.

ВВЕДЕНИЕ

В данной работе рассмотрены различные методы введения трития в соединения липидной природы. Хотя к липидам относятся органические соединения, которые нерастворимы в воде, растворимы в органических растворителях, содержат в молекулах высшие алкильные радикалы и содержатся в живых организмах [1], мы включили в перечень рассматриваемых соединений также некоторые низкомолекулярные биорегуляторы и фармпрепараты, с целью сравнения преимуществ и недостатков различных методов введения тритиевой метки.

Пристальное внимание к проблеме получения меченных тритием органических соединений определяется несколькими объективными предпосылками.

1) Достоинствами трития как радиоактивной метки (удобный период полураспада, высокая мольная радиоактивность и т.д. [2–4]).

2) Наличием в настоящее время методов разделения сложных смесей с использованием ВЭЖХ [5, 6].

3) Существенным преимуществом меченных тритием препаратов в исследованиях по лиганд-рецепторному связыванию [7–12]. Высокие мольные радиоактивности, практическое отсутствие изотопных эффектов при специфическом связывании с рецепторами позволяют добиться высокой чувствительности связывания, что необходи-

мо для изучения механизма действия биологически активных препаратов [13, 14].

4) Частым использованием меченных тритием соединений при фармакокинетических исследованиях [15–17] для определения органа-мишени, где преимущественно накапливается лекарственный препарат, или скорости выведения этого препарата из живых организмов.

5) Необходимостью тритиевых соединений для исследования метаболизма, изучения субстратной специфичности ферментов, а также использования их для поиска новых эффективных ингибиторов ферментов [18–25].

6) Если при этом учесть, что тритиевые препараты как минимум в десять раз дешевле аналогичных ¹⁴C-меченных, то становится понятным большой интерес ко всему, что связано с получением тритиевых аналогов биологически активных соединений.

Методы введения тритиевой метки можно разделить на две основные группы: различные варианты изотопного обмена и химические методы. В свою очередь методы изотопного обмена подразделяются на реакции с газообразным тритием [3, 4] и с тритиевой водой [26], а химические методы [2–4] – на методы введения метки тритированием или дегалоидированием газообразным тритием; методы восстановления тритийсодержащими реагентами соответствующих предшественников; методы с использованием конденсации сложных немеченных фрагментов с мечеными реагентами на последних стадиях синтеза или с использованием меченых предшественников в многостадийном синтезе [3, 4]. Кроме того, возможно превращение одних меченых со-

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 196-02-12; факс: (095) 196-02-21).

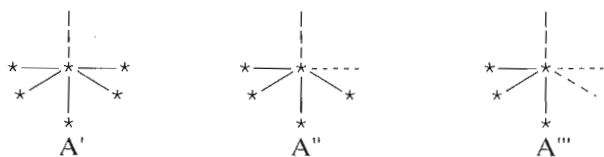


Схема 1. Активные центры A' , A'' и A''' разной степени координационной ненасыщенности при гетерогенном катализе. Звездочками показаны атомы металла-катализатора.

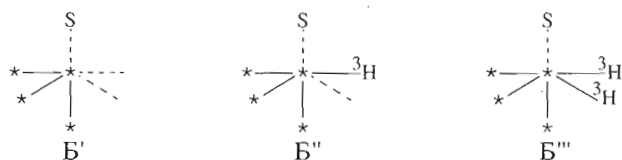


Схема 2. Активные центры B' , B'' , B''' , содержащие различные количества атомов трития, при изотопном обмене с тритиевой водой.

единений (полученных химическими методами или изотопным обменом) в другие ферментативными и химическими методами [4, 27–30]. Формулы ряда препаратов, в которые вводили метку перечисленными выше методами, приведены на рис. 1 и 2.

Процессы, происходящие при введении метки изотопным обменом, можно представить следующим образом. При взаимодействии молекул трития с многоцентровым каталитическим ансамблем на поверхности металла-катализатора в результате гетеролитического разрыва Н–Н-связи образуются отрицательно и положительно заряженные частицы. Первая частица образует различные гидриды с атомами металла [4, 31–33], вторая способна мигрировать на поверхности носителя [34–37] – явление, названное спилловером.

Анализ литературных данных позволяет предположить, что при обработке газообразным тритием растворов органических соединений (жидкофазные методы) гетерогенный катализ осуществляется на активных центрах, отличающихся разной степенью координационной ненасыщенности [4, 31–33, 38–42]. Эти активные центры можно представить в виде приведенных на схеме 1 структур.

Эти структуры отвечают представлениям, что каталитические процессы происходят на поверхности металлического кристалла (A'), на его гранях (A'') и углах (A''') [43]. Свободные координационные связи могут занимать молекулы растворителя (S) или атомы трития.

В твердофазном методе (когда вещество, нанесенное на катализатор, нагревают в атмосфере газообразного трития) механизм включения метки иной [34–37, 44, 45]. В ряде работ [36, 37, 44, 45] последних лет сделано предположение, что при спилловере протон и соответствующий ему элек-

трон могут перемещаться по поверхности раздельно. Это подтверждается тем, что при спилловере водорода на неорганической поверхности обнаружены одновременно электронная и ионная проводимости. В транспорте водорода могут принимать участие адсорбированные на поверхности молекулы воды, поверхностные гидроксильные группы и т.д. Поэтому в качестве модели для твердофазных реакций изотопного обмена, в качестве одного из возможных вариантов рассматривается взаимодействие гидроксония с органическим соединением в присутствии трития. Выполненные для этого случая квантово-химические расчеты показали [37, 44, 45], что за счет дополнительного взаимодействия атомов водорода происходит понижение энергии активации реакции его обмена, что значительно повышает степень включения трития. Валентные углы и длины связей С–Н при углеродном атоме, у которого происходит изотопный обмен, хорошо совпадают с соответствующими параметрами иона

CH_5^+ . Такой одноцентровый механизм объясняет сохранение оптической чистоты исходного соединения при использовании твердофазных методов изотопного обмена. Это последнее обстоятельство особенно важно при введении тритиевой метки в физиологически активные вещества, в которых, как правило, имеются асимметрические атомы.

Для введения метки в соединения, лабильные в условиях гидрирования, незаменим метод изотопного обмена с тритиевой водой в инертных растворителях. Главным источником тритиевой воды, как правило, является PdO, который предварительно восстанавливают газообразным тритием. Очевидно, что чем активнее катализатор, тем выше степень изотопного обмена с тритиевой водой, но и вероятность деградации лабильного вещества также возрастет. Если активные центры (B') катализатора не содержат атомов трития (схема 2), на них возможен лишь изотопный обмен [46], тогда как на содержащих водород центрах (B'' , B''') возможно протекание различных побочных реакций [4, 31–33].

В связи с этими представлениями становится понятным, почему следует модернизировать методику для введения метки в каждый отдельный класс органических соединений.

Химическому синтезу меченных тритием липидов предваряет синтез соответствующих предшественников [3, 4, 47–53], содержащих тройные связи, дополнительные двойные связи, галоидзамещенные фрагменты и т.д., подлежащие дальнейшей модификации с использованием газообразного трития для получения искомого меченого препарата. Синтез предшественников – задача традиционной органической химии. При проведении многостадийных синтезов, использующих в качестве исходного соединения меченый препарат,

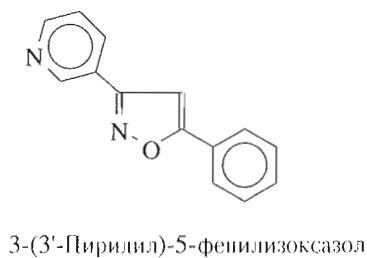
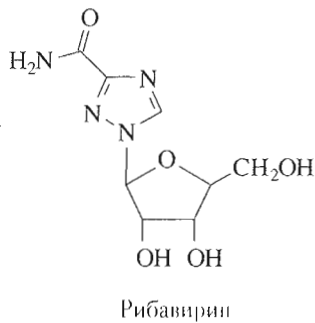
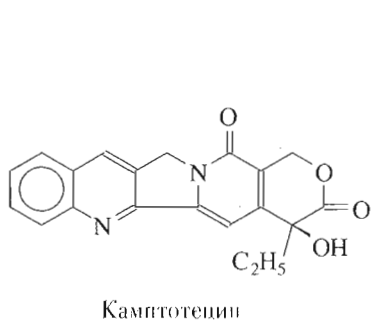
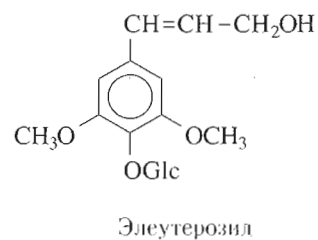
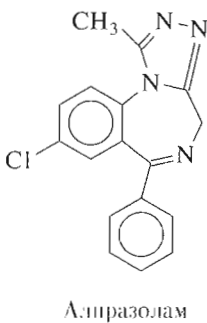
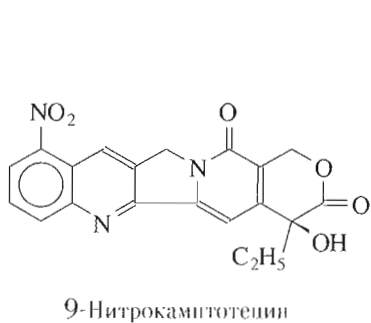
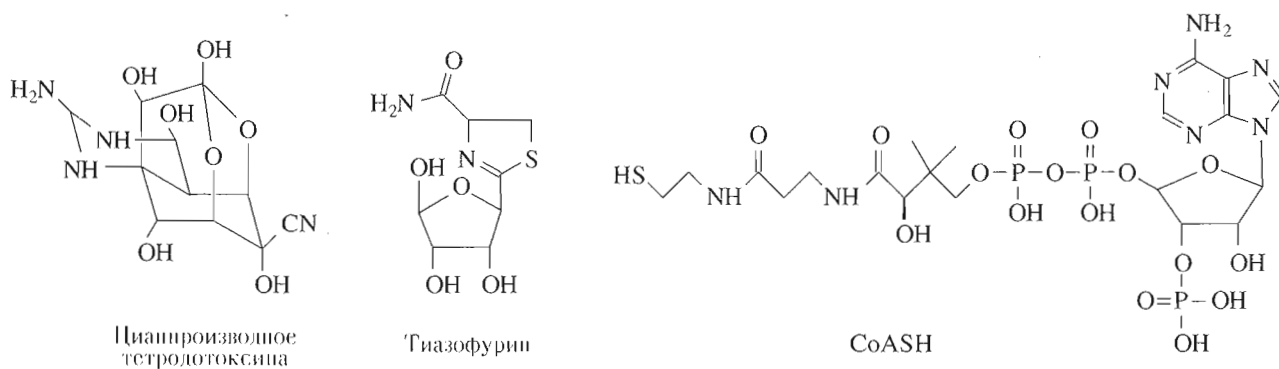
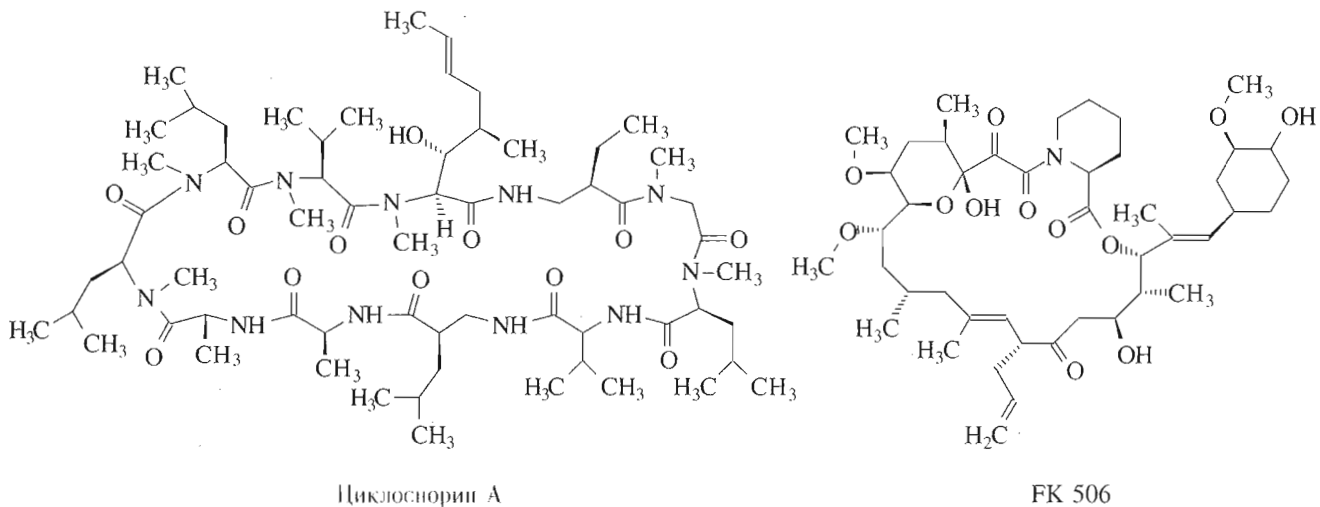


Рис. 1. Формулы ряда препаратов, в которые вводили метку методами изотопного обмена.

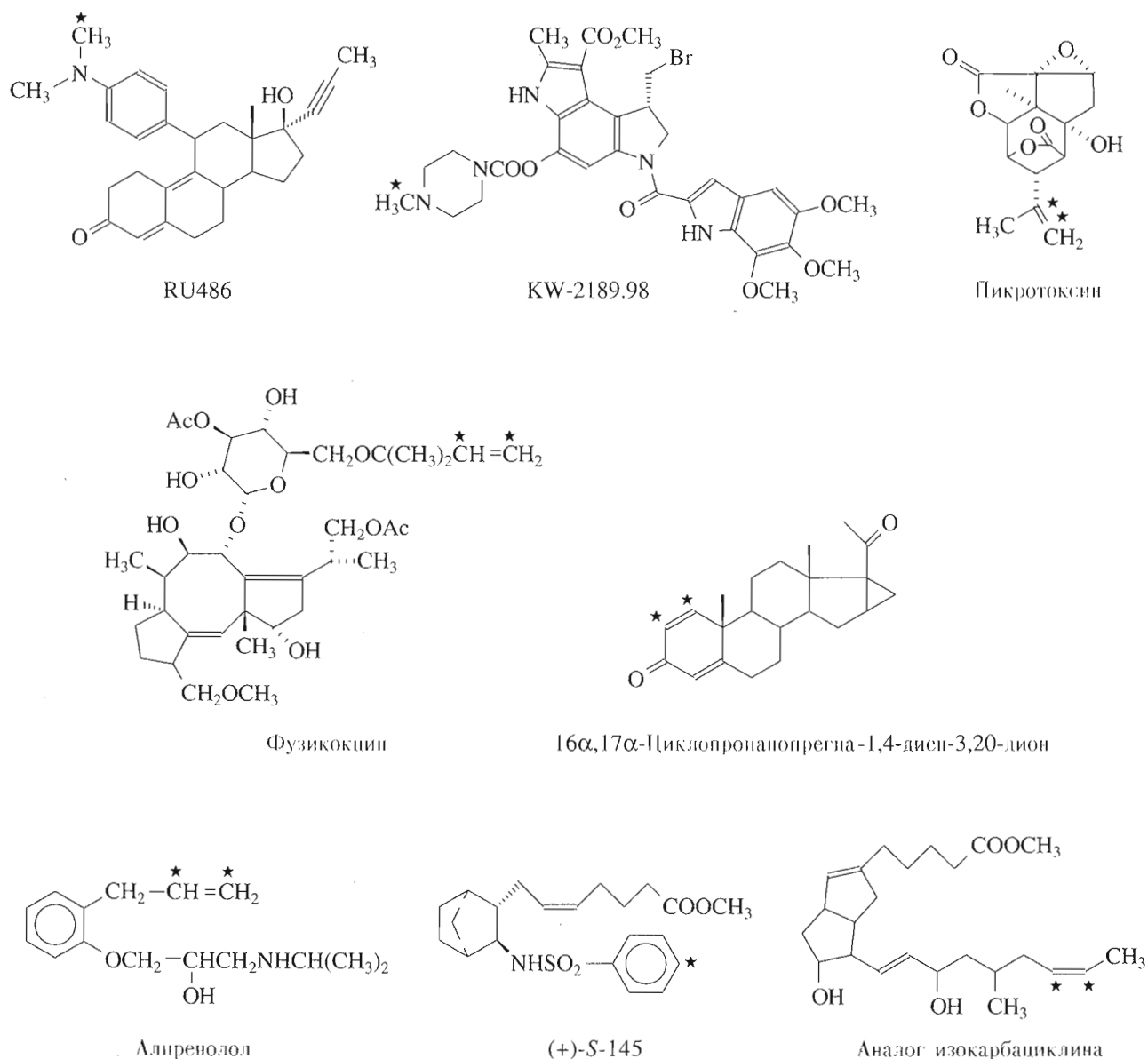


Рис. 2. Формулы ряда препаратов, в которые вводили метку химическими методами. Звездочками показаны атомы углерода, к которым в результате реакции присоединяется тритий.

необходимы качественно новые подходы, позволяющие не только с высоким выходом получить целевой продукт, но и сделать сам процесс технологически безопасным.

I. ВВЕДЕНИЕ ТРИТИЕВОЙ МЕТКИ ИЗОТОПНЫМ ОБМЕНОМ

1.1. Введение метки в соединения липидной природы обработкой их растворов газообразным тритием в присутствии катализаторов (жидкофазный метод)

При обработке растворов липидных препаратов газообразным тритием реакции происходят

на активных центрах (А) металлов-катализаторов. В работах [4, 31–33, 38, 39], а также в [54–59] показано, что для получения меченных тритием липидных препаратов неизменной структуры изотопный обмен необходимо проводить по возможности быстро и подбирать условия, когда гидриды металлов-катализаторов образуются относительно медленно: использовать пониженные давления трития, дезактивированные катализаторы (например, катализатор Линдлара), интерметаллические соединения и т.д. (табл. 1). Очевидно, что для получения меченых соединений с высокими мольными радиоактивностями в условиях гидрирования необходимо также создавать

Таблица 1. Введение тритиевой метки в соединения липидной природы изотопным обменом

Соединение	Мольная радиоактивность, ТБк/моль	Номер ссылки	Соединение	Мольная радиоактивность, ТБк/моль	Номер ссылки
Холестерин	1.7	[3]	Дигоксин	500	[59]
Холестан-3β-ол	0.8	[3]	Метилолеат	147	[3]
β-Ситостерин	2.1	[3]	Метилэйкозатриеноат	34.0	[3]
3-(3'-Пиридил)-5-фенил-изоксазол	9.0	[58]	Метиларахидонат	92.5	[3]
Полипренилфосфат	48.1	[59]	Простагландин E ₂	64.4	[4]
Элеутерозид В	6.7	[59]	Метилловый эфир 15-фтор-15-дезоксипростагландина F _{2α}	92.5	[4]
Метилстеарат	35.8	[3]	10-Ундеценовая кислота*	2960	[31]
Метилмиристат	28.3	[3]	Альпренолол*	2040	[31]
Дипальмитоилфосфатидил-холин	14.8	[59]	Фузикоцин*	3050	[32]

* Метка включается за счет изотопного обмена и за счет тритирования одной двойной связи.

максимально благоприятные условия для осуществления изотопного обмена, за счет которого, до восстановления в молекулах исходного соединения двойных связей, тритий может включаться в количествах, соизмеримых с достигаемыми при непосредственном тритировании С=С-связей.

Для более глубокого понимания процессов, связанных с включением трития в различные органические соединения, большое значение имели данные, полученные при изучении химии комплексных соединений переходных металлов. Эти вещества повторяют каталитические свойства ме-

таллов, но проявляют свое действие в гомогенной системе [54]. Например, по данным масс-спектрометрии [55, 56], при восстановлении газообразным дейтерием фрагмента [R-O-C(CH₃)₂-CH=CH₂] молекулы фузикоцина (5% Pd/BaSO₄, бензол) образуется [²H]терпеноид, содержащий 22% изотомера с тремя и 34% – с четырьмя атомами дейтерия. Причину этого явления можно объяснить, анализируя результаты гидрирования бензольных растворов производных бензодиоксана (I–III) газообразным тритием в присутствии (Ph₃P)₃RhCl [39, 57] (схема 3). Включение метки в случае использования гомогенного катализатора происхо-

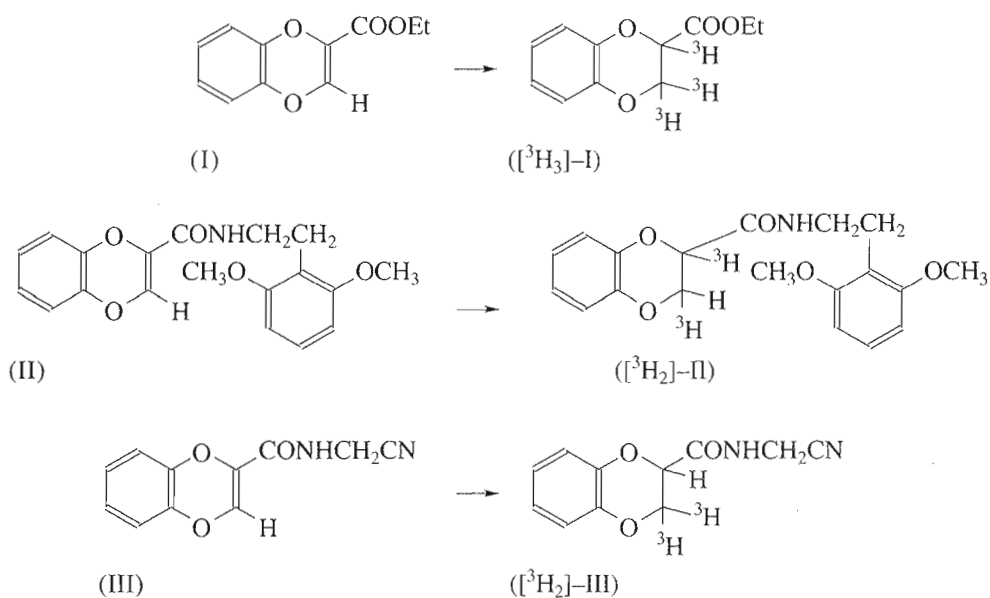


Схема 3. Тритирование производных бензодиоксанов.

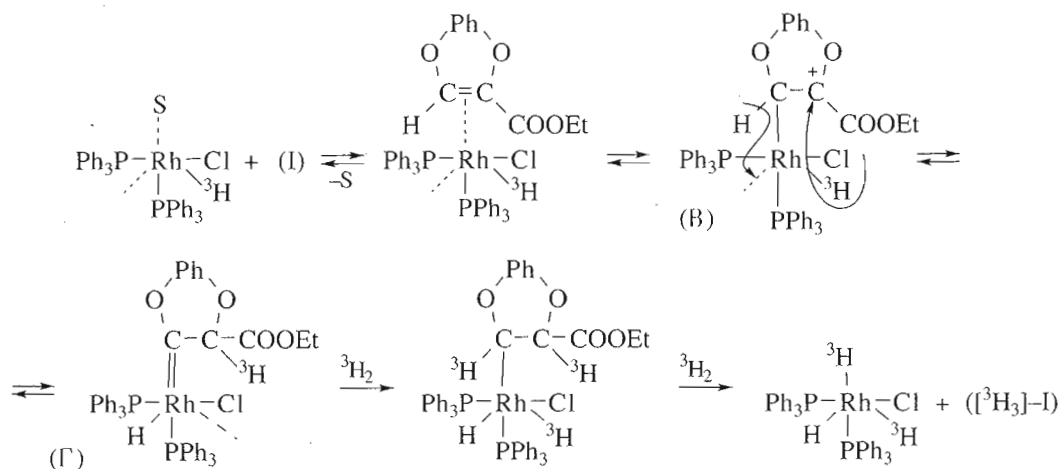


Схема 4. Каталитическое тритирование соединения (I).

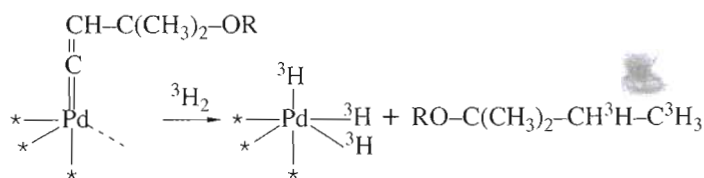


Схема 5. Каталитическое тритирование фузикокина.

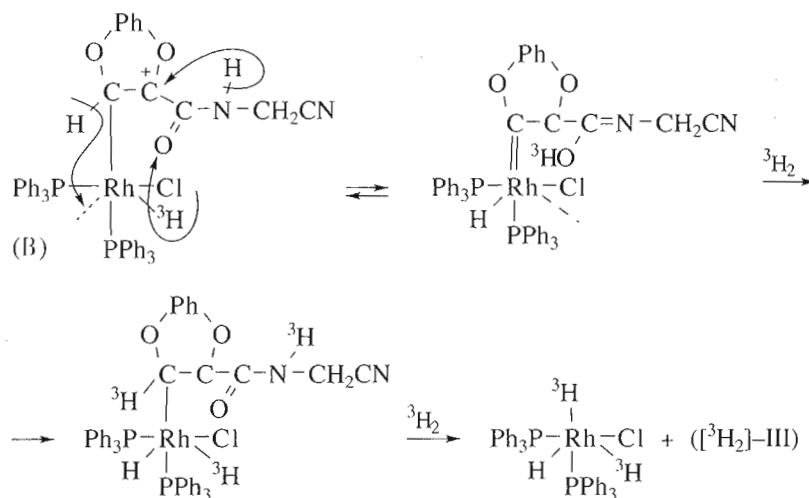


Схема 6. Каталитическое тритирование соединения (III).

дано на единичном активном центре, при этом методом ^3H -ЯМР показано [57], что распределение метки зависело от строения производного бензодиоксана.

При тритировании соединения (I) все атомы водорода в диоксановом кольце замещаются на тритий. В производном (II) метка включается только за счет тритирования двойной связи. При тритировании соединения (III) метка включается только в β -положение к заместителю в диоксановом

кольце. Механизм этого процесса представлен на схеме 4 [39].

Очевидно, что при тритировании терминальных двойных связей по той же схеме могут обмениваться оба терминальных водорода на тритий с образованием соединений, содержащих четыре атома трития, как это и имеет место при тритировании фузикокина (схема 5).

Если из-за стерических факторов образование переходного состояния (Г) невозможно, то трити-

рование осуществляется по классическому пути [54] с образованием продуктов, содержащих два атома трития ($[^3\text{H}]_2$). Если рядом с активным комплексом (В) находится подвижный водород, распределение метки оказывается иным (схема б).

1.2. Введение метки нагреванием в атмосфере газообразного трития соединений, нанесенных на катализатор (твердофазный метод)

Исследования зависимости степени изотопного обмена от температуры, от соотношения катализатор–вещество, от времени проведения реакции, от природы катализатора показали [36, 58–69], что твердофазные реакции в оптимальных условиях завершаются за 10–60 мин (при использовании в качестве катализаторов 5% Pt/C, 5% Pd/C, 5% Rh/C, 5% Pd/BaSO₄; соотношении катализатор–вещество (10 : 1); температуре в диапазоне 60–240°C).

Липиды – низкоплавкие соединения, молекулы которых легко перемещаются друг относительно друга, поэтому в условиях проведения твердофазных реакций они практически все с равной вероятностью взаимодействуют с активированными частицами трития. За счет этого явления мольные радиоактивности подобных веществ оказываются (табл. 2–4) значительно выше, чем для высокоплавких соединений.

Как видно из данных, приведенных в табл. 4, практически весь водород в молекулах метилстеарата обменивается на тритий (мольная радиоактивность при введении одного атома трития составляет 1.08 ПБк/моль), в то время как для натриевой соли уксусной кислоты мольная радиоактивность составляет лишь около 40% от максимально возможной. Это связано с тем, что молекулы ацетата натрия, имеющего высокую температуру плавления, не способны легко перемещаться относительно друг друга и часть их оказывается вне зоны реакции изотопного обмена, что подтверждается данными ^3H -ЯМР [65]. Не все вещества в одинаковой степени выдерживают условия твердофазного обмена. Если химический выход гексадекана и цетилового спирта после реакции составлял 80%, то меченые соединения, содержащие свободные амины, образуются с выходом 10–25% [65], а в случае спермина, где возможно внутримолекулярное дезаминирование, вещество во время реакции разрушается полностью [66].

Твердофазный метод, кроме получения высокомеченых препаратов из насыщенных предшественников за счет изотопного обмена [60], делает возможным введение метки за счет гидрирования ароматических соединений и соединений, содержащих ненасыщенные гетероатом-углеродные связи [64]. Еще одним преимуществом мечения в твердофазном режиме является возмож-

Таблица 2. Зависимость мольной радиоактивности стеариновой кислоты (в процентах от максимально возможной) от времени реакции, температуры и типа катализатора (соотношение катализатор–вещество, 20 : 1) [60]

Время, мин	Относительная мольная радиоактивность, %			
	5% Pt/C, 210°C	10% Pd/C, 190°C	5% Pt/C, 230°C	5% Pd/BaSO ₄ , 240°C
1	–	–	5.0	–
2	7.2	–	–	–
3	–	–	7.3	–
4	7.4	–	–	–
5	–	8.1	10.8	3.4
7	–	–	11.9	–
8	12.3	–	–	5.9
9	–	–	15.3	–
10	18.2	15.2	19.3	10.6
11	–	–	18.9	–
13	22.5	–	18.4	7.8
15	25.1	24.2	16.2	7.6
17	25.7	–	–	–
20	22.4	21.2	–	7.6
25	18.0	–	–	–
30	15.1	18.5	10.3	6.5
40	–	–	–	5.9
60	8.8	10.9	6.9	–
90	7.8	7.9	–	–

Таблица 3. Зависимость мольной радиоактивности стеариновой кислоты (в процентах от максимально возможной) от температуры, при которой проводился изотопный обмен, и типа катализатора (соотношение катализатор–вещество 10 : 1, время реакции 15 мин) [60]

t, °C	Относительная мольная радиоактивность, %				
	5% Pt/C	10% Pd/C	5% Pt/C	5% Pd/BaSO ₄	5% Rh/C
130	1.5	–	–	–	–
140	–	11.9	–	–	0.6
145	12.2	–	–	–	–
150	–	–	–	–	0.6
160	14.9	–	–	–	0.9
170	21.6	14.0	1.0	–	0.6
180	22.8	23.2	–	9.5	0.4
190	23.9	24.2	2.5	10.9	–
200	–	22.0	5.7	19.4	0.3
210	27.2	–	6.8	15.5	0.2
220	22.0	9.3	5.1	11.2	0.3
230	–	7.5	2.7	10.5	0.2
240	13.2	6.9	–	8.2	–

Таблица 4. Введение тритиевой метки в липиды и некоторые модельные вещества твердофазным методом

Соединение	Мольная радиоактивность, ПБк/моль*	Номер ссылки
Стеариновая кислота	13.0–13.5	[60]
Миристиновая кислота	12.0–12.1	[60]
Лауриновая кислота	11.0–11.5	[60]
Пальмитиновая кислота	12.5–12.9	[60]
6-Кетопальмитиновая кислота	27.5–27.8	[60]
Метилстеарат	38.0–40.0	[60]
Цетиловый спирт	5.0–5.5	[60]
Гексадекан	17.0–17.5	[60]
Холестерин	0.5–1.0	[69]
Ацетат натрия	1.1–1.3	[65]
Дигидросфингозин	7.4–7.8	[66]
Этаноламин**	0.1–0.2	[67]
9-Нитрокамптотецин	0.5–0.6	[68]
Метилловый эфир N-нитроаргинаина	0.7–1.0	[68]
2,2,6,6-Тетраметил-4-гидроксипиперидин**	4.5–4.8	[59]
2,2,6,6-Тетраметил-4-аминопиперидин**	4.5–4.8	[59]

* Мольная радиоактивность препарата при введении одного атома трития составляет 1.08 ПБк/моль.

** Исходными соединениями были соответственно: нитрил гликолевой кислоты, 2,2,6,6-тетраметил-4-оксопиперидин, 2,2,6,6-тетраметил-4-гидроксиминопиперидин.

ность введения метки в соединения, которые обычно легко восстанавливаются при проведении реакции в растворе (например, при введении метки в нитросоединения [68]).

Интересно сравнить эффективность жидкофазного и твердофазного методов при введении метки в конкретные соединения. Например, при введении метки в 3-(3'-пиридил)-5-фенил-изоксазол [58] жидкофазным методом выход меченого аналога составил 50–60%; твердофазным методом был получен выход 20–25% практически при той же мольной радиоактивности. При этом содержание препарата (по радиоактивности) в реакционной смеси в первом случае равнялось 50%, а во втором – менее 5%. Совсем иная картина наблюдалась при восстановлении бензиламина [64]. В твердофазном режиме уже при 60°C бензиламин гладко гидрировался до циклогексилметиленамина с выходом 40–45% и мольной радиоактивностью 7.4–7.8 ПБк/моль. При использовании жидкофазного метода выход составлял 20–30%, а мольная радиоактивность – 1.5–1.7 ПБк/моль. Сменой газовой фазы в ходе жидкофазной реак-

ции (что технически довольно сложно, хотя резко уменьшает изотопное разбавление) удалось повысить мольную радиоактивность конечного продукта до 4.0–4.4 ПБк/моль. Кроме того, из ³H-ЯМР-спектров следует, что при использовании твердофазного метода метка в продукт реакции включается равномерно, в то время как при жидкофазном тритировании практически вся метка находится в циклогексильном фрагменте молекулы амина (причины этого обсуждаются авторами статьи [64]).

Восстановление цианогрупп в производном тетродотоксина жидкофазным методом (мольная радиоактивность – 0.31 ПБк/моль) также оказалось менее эффективным, чем восстановление 11-циан-ундекановой кислоты твердофазным методом (мольная радиоактивность – 2.05 ПБк/моль) [59]. Таким образом, если препарат устойчив в условиях реакции в твердой фазе, этот метод позволяет получить меченые соединения с более высокой мольной радиоактивностью, чем при изотопном обмене с растворенными соединениями, так как проведение реакций с газообразным тритием более эффективно при повышенных температурах, а в отсутствие растворителя изотопное разбавление значительно меньше.

1.3. Введение метки изотопным обменом с тритиевой водой

Введение метки за счет изотопного обмена с тритиевой водой, если вещество выдерживает среды с pH более 11 или менее 2, можно эффективно проводить и в отсутствие гетерогенных или гомогенных катализаторов [70]. Например, так вводили метку в камптотецин, который выдерживает многодневное нагревание (около 90°C) в виде раствора в 98% серной кислоте [70].

Введение метки в соединения, где возможен обмен протонов на тритий в α-положениях к кето-группе [71], происходит в более мягких условиях (раствор в диметилформамиде в присутствии триэтиламина, 64 ч, 80°C). Таким путем получен ряд меченых стероидов, правда, мольная радиоактивность препаратов не превышала 57–130 ГБк/моль [71].

Для введения метки в первичные спирты авторы работы [72] использовали в качестве катализатора дихлор-трис(трифенилфосфин)рутений, но в этом случае применялась готовая тритиевая вода с невысокой мольной радиоактивностью, поэтому и мольные радиоактивности конечных препаратов были невелики.

Значительно повысить мольную радиоактивность меченых соединений удалось, получая тритиевую воду *in situ* восстановлением оксида палладия или платины газообразным тритием. Такая вода имела максимально возможную радиоактив-

ность и ее использовали в виде растворов в апротонных растворителях для сведения к минимуму разрушения искомого продукта за счет радиолиза. Для работы со 100% тритиевой водой обычно применяют гетерогенные катализаторы, которые устойчивы к радиолизу и тем самым не создают дополнительных трудностей при выделении меченых препаратов из реакционных смесей. Существует несколько методик для введения метки методом изотопного обмена с тритиевой водой.

В работе [73] на примере введения метки в алпрозолам, систематизированы эти подходы. При использовании традиционной методики (когда в реакционную ампулу помещали катализатор, вещество, тритиевую воду, диоксан и перемешивали ее содержимое при комнатной температуре) мольная радиоактивность достигала 65 ТБк/моль. Если оксид палладия восстанавливали газообразным тритием *in situ* в растворе, после удаления избыточного трития добавляли алпрозолам и перемешивали реакционную смесь при 20°C, мольная радиоактивность была того же порядка (46 ТБк/моль). Наиболее удачной оказалась методика, когда алпрозолам, PdO и катализатор выдерживали в атмосфере газообразного трития в течение 10–15 мин при 70°C. Образовавшуюся тритиевую воду и активированные катализаторы замораживали жидким азотом, ампулу вакуумировали и заполняли аргоном. После впрыскивания в ампулу раствора триэтиламина в диоксане ее запаивали и выдерживали в термостате при 150–200°C. Мольная радиоактивность меченого препарата достигала 900–1000 ТБк/моль, что на порядок выше получаемой с использованием традиционных методик. В этих условиях происходило практически равномерное включение метки в вещество, диоксан и триэтиламин, поэтому с учетом изотопного разбавления полученная мольная радиоактивность алпрозолама практически совпадала с равновесной.

Алпрозолам был выбран не случайно, так как это вещество, во-первых, выдерживает довольно жесткие условия обработки, что позволяет сравнивать разные методики введения метки, во-вторых, он содержит реакционноспособные группы, что делает возможным оценить влияние условий проведения реакции на вероятность образования продуктов дегалогидирования, гидрирования, изомеризации, гидролиза, в-третьих, хорошо изучены методики анализа и очистки как этого триазолобензодиазепина, так и основных продуктов, которые из него могут образоваться.

Была исследована применимость данной методики к различным биологически активным соединениям, таким как ароматические, серосодержащие, ненасыщенные ароматические и ациклические соединения [46, 74, 75]. Мольные радиоактивности полученных препаратов изменялись от 67 до 670 ТБк/моль. Были изучены зависимости

степени изотопного обмена от природы катализатора, от соотношения компонентов реакционной смеси [оксида палладия (источника тритиевой воды), соединения, катализатора, диоксана, триэтиламина], температуры и времени проведения реакции. Было показано, что подобные реакции завершаются за 30–180 мин, оптимальными катализаторами являются 5% PdO/Al₂O₃ или 5% Pd/BaSO₄, при весовом соотношении оксид палладия–катализатор–вещество (25–50) : (30–35) : (10–20) в присутствии смеси диоксана с триэтиламином (10 : 1), при температурах 60–200°C [46, 74, 75]. Установлено, что данный метод применим для введения метки практически в любое соединение (табл. 5). Но, как уже отмечалось, условия проведения реакции необходимо корректировать с учетом устойчивости тех или иных препаратов. Например, при введении метки в ароматические соединения (алпрозолам, CoASH, CoASAc) можно использовать катализатор, насыщенный тритием (удаление избыточного трития вакуумированием при охлаждении содержимого реакционной ампулы жидким азотом), и варьировать температуру реакционной смеси и время проведения процесса. В то же время при введении метки в соединения, содержащие ненасыщенные углерод-углеродные связи (циклоспорин А и FK-506), приходилось использовать катализатор, дегазированный при 20 и 70°C соответственно, чтобы свести к минимуму процесс тритирования двойных связей на активных центрах типа Б" и Б'" (см. схему 2).

Интересно сравнить возможности рассмотренных методов изотопного обмена, как это уже было сделано в предыдущей главе (табл. 5). Как видно из приведенных данных, ряд соединений можно получить только изотопным обменом с тритиевой водой, но даже в тех случаях, когда вещество выдерживает условия твердофазного метода, преимущества последнего не очевидны. Так, при введении метки в рибавирин и тиазофуридин применение твердофазного метода предпочтительно, а при введении метки в алпрозолам к успеху приводит использование метода изотопного обмена с тритиевой водой. Причины этого рассмотрены в начале обзора (различны механизмы процесса введения метки) и обсуждаются в работе [75].

Общим заметным недостатком всех перечисленных методов является то, что, во-первых, распределение метки не строго фиксировано (это уменьшает ценность данных препаратов для биологических исследований), во-вторых, мольные радиоактивности соединений, которые не выдерживают жестких условий твердофазного метода, недостаточны для проведения ряда экспериментов, например, рецепторных исследований. Так, методом изотопного обмена с тритиевой водой редко удается получить препараты с мольной радиоактивностью выше одного ПБк/моль. Эту проблему позволяют решить химические методы введения

Таблица 5. Введение тритиевой метки методом изотопного обмена с тритиевой водой (ТВ), твердофазным (ТФ) и жидкофазным (ЖФ) методами [46, 74, 75]

Соединение	Мольная радиоактивность, ТБк/моль	Метод
Коэнзим А (CoASH)	130–148	ТВ
Коэнзим А ацетат (CoASAc)	333–352	ТВ
Циклоспорин А	111–185	ТВ
FK-506	518–593	ТВ
Рибавирин	1000–1111	ТФ
Тиазофуриин	630–667	ТФ
	259–296	ТВ
	17–20	ЖФ
Алпрозолам	111–148	ТФ
	926–1004	ТВ

ТВ – обработка раствора препаратов тритиевой водой в присутствии активированного катализатора.

ТФ – обработка газообразным тритием препаратов, нанесенных на катализатор.

ЖФ – обработка раствора препаратов газообразным тритием в присутствии катализатора.

третиевой метки. С их помощью можно получать сложные, лабильные биологически активные соединения с высокой мольной радиоактивностью. При этом, как правило, требуется синтез соответствующих немеченых предшественников.

II. ХИМИЧЕСКИЕ МЕТОДЫ ВВЕДЕНИЯ ТРИТИЕВОЙ МЕТКИ

Как уже отмечалось во Введении, при использовании химических методов в синтезе меченых препаратов существует два основных методологических подхода. Первый, когда метка вводится на последней стадии синтеза искомого меченого препарата, и второй, когда метка вводится в соответствующий реагент, используя который, осуществляют синтез требуемого меченого соединения.

II.1. Введение метки восстановлением соответствующих предшественников газообразным тритием

Самыми распространенными методами введения метки в биологически активные соединения являются тритирование [3, 4, 47–51, 53, 76–84] и дегалоидирование [52, 59, 85] газообразным тритием соответствующих предшественников (табл. 6, 7). Механизм этих процессов подробно описан в работах [4, 31, 32, 54].

Основная задача при использовании этих методов применительно к липидам – сохранение их биологических функций, прямо связанных с нена-

сыщенностью [3, 4]. Этими методами получали меченые полиеновые жирные кислоты, простагландины, лейкотриены, фосфолипиды, сфинголипиды, стероиды, используя палладиевые, платиновые, родиевые катализаторы. Для уменьшения изотопного разбавления реакции проводили в апротонных растворителях.

При тритировании нетерминальных двойных связей лучшие результаты были получены при использовании палладиевых катализаторов и в качестве растворителя – этилацетата [31]. При тритировании терминальных двойных связей наилучшее включение метки наблюдается при использовании в качестве растворителя бензола. Одним из существенных преимуществ этих методов является то, что 90–97% метки оказывается у атомов углерода, при которых находились связи C=C, C≡C или атомы галоида [3]. Интересные данные содержатся в работе [78]: из спектров ³H-ЯМР следует, что при тритировании фрагмента R-O-CH=CH-(CH₂)₁₃-CH₃ фосфолипида, при углеродном атоме, связанном с кислородом, оказывается 42% трития, а при соседнем углеродном атоме – 58%. Кроме того, по данным масс-спектрометрии, 8.3% гидрированных молекул вещества содержат один атом трития, 39% – два, 42.9% – три атома трития. По-видимому, в ходе тритирования метка может включаться как при реализации переходного состояния (Г) (схема 4), так и классическим присоединением атомов трития по двойной связи. При этом в первом случае в молекулу фосфолипида включается три атома трития, а во втором случае – два. Несложный расчет показывает, что указанное распределение метки имеет место при соотношении первого и второго механизмов как 38 : 62. Этим же феноменом объясняется образование почти 43% трижды меченого изотомера, несмотря на существенные изотопные эффекты, приводящие к тому, что более 18% молекул фосфолипида содержат меньше двух атомов трития.

Для селективного тритирования одной из нескольких двойных связей необходимо найти условия реакции, при которых различия в скоростях тритирования разных C=C-связей максимальны. Например, при селективном тритировании простагландина E₃ максимальный выход [17, 18-³H₂]простагландина E₂ достигал 60–65% при использовании катализатора Линдлара и бензола в качестве растворителя; проведение реакции в ацетоне, этилацетате и смеси бензола с ацетоном снижало выход до 30–35, 40–45 и 45–50%, соответственно [76]. При синтезе 16α,17α-циклогекс-3'-ено[1,2-³H₂]прегн-4-ен-3,20-диона селективное тритирование 16α,17α-циклогекс-3'-енопрегн-1,4-диен-3,20-диона вели в присутствии трис(трифенилфосфин)родийхлорида в этилацетате; через 20 мин выход искомого препарата составлял 20–25, через 40 мин – 35–40, через 75 мин –

0% [77]. Если разница в реакционной способности двойных связей для их селективного тритирования недостаточна, необходимо введение соответствующих защитных групп. Например, введение *трет*-бутилдиметилсилильных (BDMS) защитных групп в простагландины позволило заметно повысить выход искомым меченых продуктов [80], избирательная кетализация 3-карбонильной группы в 16 α ,17 α -циклогекс-3'-енопрогестероне, протекающей со сдвигом сопряженной двойной связи, позволила поднять до 55–65% образование продукта тритирования кольца D' [53].

Не менее важной для введения метки в биологически активные соединения является реакция селективного тритирования ацетиленовых связей [4, 47–51]. Необходимо выбрать условия тритирования, при которых выход искомым продуктам близок к максимальному. Это связано с тем, что наличие недогидрированных и перегидрированных продуктов, особенно в случае тритирования полиацетиленовых предшественников, сильно затрудняет выделение целевых препаратов. Хотя для повышения селективности гидрирования часто используют пиридин или хинолин [59], наиболее перспективным направлением в настоящее время считается обработка гетерогенных катализаторов диацетатом свинца. Например, палладий на сульфате бария, последовательно обработанный метанольными растворами диацетата свинца и боргидрида натрия, позволяет синтезировать эйкозаполиеновые кислоты из соответствующих ацетиленовых предшественников с выходом 50–85% после нескольких стадий очистки [59].

Природные липиды, как правило, не содержат атомов галоида, но дегалоидируя газообразным тритием необходимые синтоны, можно синтезировать меченые предшественники, которые в дальнейшем используются для получения сложных биологически активных соединений. Например, меченные этим методом бензойные кислоты [59] успешно вводились для введения метки в нейротоксины (батрахотоксин, аконитин).

II.2. Введение метки восстановлением соответствующих предшественников комплексными тритидами металлов

В качестве комплексных тритидов металлов обычно используются бортритид натрия [4, 86–92] и алюмотритид лития [93]. Современные методы синтеза этих препаратов заключаются или в выдерживании соответствующего боргидрида (лития, натрия, калия) в атмосфере трития при 270–500°C в течение 4–6 ч, или реакцией бутиллития с газообразным тритием в присутствии *N,N,N',N'*-тетраметилэтилендиамина, в результате которой образуется тритид лития, из которого можно синтезировать целый набор комплексных тритидов металлов [94, 95]. Восстановлением со-

ответствующих предшественников (содержащих альдегидные, кето-, карбокси-группы и др.) перечисленными выше тритидами были синтезированы: (2E,6E)-3,7,11-триметил-2,6,10-[10-³H]додекатриен-1-ол ([10-³H]фарнезол)¹ [92]; (2E,6E)-3,7,11-триметил-2,6,10-[10-³H]додекатриен-1-аль ([10-³H]фарнезаль)¹ [92]; диэтилацеталь-(2E)-4-гидрокси-[4-³H]нонен-1-аль² [91]; 2-винил-[1,1,3-³H₃]дигидросфингозин-1-фосфат³ [90]; гидрохлорид (3S)-амино-4-гидрокси-5-[5,5,6,6-³H₄]тридецил-1-фосфониевой кислоты (фосфонатный аналог сфинганин-1-фосфата)⁴ [89]; а также несколько меченых стероидов [86–88]. Мольная радиоактивность используемого в экспериментах бортритида натрия была в пределах от 1 до 600 ТБк/моль, а препаратов – от 0.2 до 200 ТБк/моль. Реакцию, как правило, вели в этанолсодержащих растворителях в течение 0.5–20 ч, при 0 или 20°C. Затем избыток бортритида разлагали минеральной кислотой и продукт очищали хроматографией.

Как можно видеть, этот метод не может конкурировать с твердофазным методом или методами, перечисленными в предыдущем разделе, по степени включения метки, но он вполне приемлем для получения меченых препаратов как маркеров.

II.3. Введение метки в липидные препараты конденсацией соответствующих предшественников с мечеными реагентами

Часто ввести метку в биологически активное соединение оказывается гораздо труднее, чем в один из его фрагментов. В таких случаях метку вводят в этот фрагмент с последующим воссозданием структуры молекулы. Например, *N*-олеилдигидросфингозин с высокой мольной радиоактивностью был синтезирован в два этапа. Сначала метку вводили твердофазным методом в дигидросфингозин (табл. 4) [66], затем конденсировали его с олеиновой кислотой методом смешанных ангидридов.

Аналогично синтезировали этаноламиды эйкозаполиеновых кислот. Очевидно, что нельзя ввести сколько-нибудь значимые количества трития в конечное соединение, не затронув двойные связи полиненасыщенных жирных кислот. Поэтому твердофазным тритированием нитрила гликолевой кислоты вводили метку в этаноламин [67], который затем конденсировали с жирной

¹ Получен из (2E,6E)-1-[(*трет*-бутилдифенилсилил)окси]-3,7-диметил-2,6-декадиен-10-аля.

² Получен из диэтилацеталь-4-оксо-2(E)-нонен-1-аля.

³ Получен из метил-2-трифторацетиламино-2-винил-нонадеконат-3-она.

⁴ Получен из диэтил-3-(S)-*трет*-бутоксикарбониламино-4-гидрокси-5-тридецинил-1-фосфоната.

Таблица 6. Введение тритиевой метки селективным тритированием

Меченое соединение (предшественник)	Мольная радиоактивность, ПБк/моль	Номер ссылки
[5,6- ³ H ₂]Арахидоновая кислота (5,6-Дегидроарахидоновая кислота)	0.9–1.3	[47]
[14,15- ³ H ₂]Арахидоновая кислота (14,15-Дегидроарахидоновая кислота)	0.9–1.3	[47]
Метил-[5,6- ³ H ₂]эйкозапентаеноата (Метил-5,6-дегидроэйкозапентаеноата)	1.5–1.8	[48]
Метил-[4,5- ³ H ₂]докозагексаеноата (Метил-4,5-дегидродокозагексаеноата)	1.5–1.8	[48]
МЭ [5,6,8,9,14,15- ³ H ₆]гепоксилина В ₃ (МЭ гексадегидрогепоксилина В ₃)	2.0–4.0	[50]
[11,12- ³ H ₂]Ретиноловая кислота (11,12-Дегидроретиноловая кислота)	1.7–1.8	[51]
16α,17α-[3',4'- ³ H ₂]Циклогексанопрегн-4-ен-3,20-дион (3,3'-Этилендиокси-16α,17α-циклогекс-3'-енопрегн-5-ен-20-он)	1.8–2.0	[53]
16α,17α-Циклопропано-[1,2- ³ H ₂]прегн-4-ен-3,20-дион (16α,17α-Циклопропанопрегна-1,4-диен-3,20-дион)	1.6–1.7	[53]
6α-Метил-16α,17α-циклогексано-[1,2- ³ H ₂]прегн-4-ен-3,20-дион (6α-Метил-16α,17α-циклогексанопрегна-1,4-диен-3,20-дион)	1.5–1.6	[53]
[17,18- ³ H ₂]Простагландин Е ₂ (Простагландин Е ₃)	1.5–1.6	[76]
16α,17α-Циклогекс-3'-ено-[1,2- ³ H ₂]прегн-4-ен-3,20-дион (16α,17α-Циклогекс-3'-енопрегна-1,4-диен-3,20-дион)	1.5–1.6	[77]
[5,6- ³ H ₂]Простагландин Е ₁ (Простагландин Е ₂)	1.6–1.8	[79]
[5,6- ³ H ₂]Простагландин Е ₁ (BDMS-эфир простагландина Е ₂)	1.8–2.0	[80]
15-Фтор-15-дезоксид-[5,6- ³ H ₂]простагландин Е ₁ (BDMS-эфир 15-фтор-15-дезоксипростагландина Е ₂)	0.9–1.1	[80]
11-Дезокси-[5,6,10,11- ³ H ₄]простагландин Е ₁ (BDMS-эфир простагландина А ₂)	2.6–3.0	[80]
МЭ (17S)-17,20-диметил-9(О)-метано-Δ ^{6(9α)} -[19,20- ³ H ₂]простагландина I ₁ (МЭ (17S)-Δ ¹⁹ -17,20-диметил-9(О)-метано-Δ ^{6(9α)} -простагландина I ₁)	1.7–1.8	[81]

BDMS – *трет*-бутилдиметилсилил; МЭ – метиловый эфир.

кислотой методом смешанных ангидридов. Интересно, что для изучения рецепции и метаболизма этих соединений, являющихся эндогенными лигандами каннабиноидных рецепторов млекопитающих, необходим был анандамид как с меченой этаноламиновой частью молекулы, так и содержащий метку в ацильном остатке. Во втором случае действовали аналогичным образом, только меченую арахидоновую кислоту получали селективным тритированием ацетиленового предшественника арахидоновой кислоты (табл. 6) с последующей конденсацией с немеченым этанол-амином.

О конденсации нейротоксинов с мечеными реагентами, полученными методом дегалоидирования, уже упоминалось в разделе II.1. Тем же спо-

собом можно синтезировать меченый антагонист тромбоксанового рецептора – (+)-S-145 (рис. 2) [96]. Последний получали конденсацией метилового эфира (+)-[1S, [1α, 2α(Z), 3β, 4α]]-7-(3-аминобицикло[2.2.1]гепт-2-ил)-5-гептената с [4-³H]бензолсульфохлоридом (3.7 ГБк, 0.88 ПБк/моль) 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%.

Чаще всего [97–100] для введения метки конденсацией с меченым реагентом на последних стадиях синтеза меченого препарата используется коммерческий C[³H₃]I [95]. Применяют также C[³H₃]MgI, приготовляемый из меченого иодис-

Таблица 7. Введение метки гидрированием и дегалоидированием газообразным тритием

Меченое соединение (предшественник)	Молярная радиоактивность, ПБк/моль	Номер ссылки
5 α -[16,17- ³ H ₂]Андростан-3-он (5 α -Андрост-16-ен-3-он)	1.5–1.7	[31]
[1,2- ³ H ₂]Дигидропикротоксин (Пикротоксин)	1.3–1.4	[32]
[4- ³ H]Фенациловый эфир 15-фтор-15-дезоксипростагландина F _{2α} (<i>n</i> -Бромфенациловый эфир 15-фтор-15-дезоксипростагландина F _{2α})	0.2–0.3	[59]
[4- ³ H]Фенациловый эфир 15-фтор-11,15-дидезоксипростагландина E ₂ (<i>n</i> -Бромфенациловый эфир 15-фтор-11,15-дидезоксипростагландина E ₂)	0.2–0.3	[59]
[4- ³ H]Фенациловый эфир простагландина F _{2α} (<i>n</i> -Бромфенациловый эфир простагландина F _{2α})	0.2–0.3	[59]
[³ H]Бензойные кислоты (Бромбензойные кислоты)	0.7–1.0	[59]
<i>n</i> -Амино-[3,5- ³ H ₂]бензойная кислота (<i>n</i> -Амино- <i>m,m'</i> -диодбензойная кислота)	1.8–1.9	[59]
1- <i>O</i> -[1',2'- ³ H ₂]Гексадецил-2-ацетил- <i>sn</i> -глицеро-3-фосфорилхолин (1- <i>O</i> -Гексадец-1'-енил-2-ацетил- <i>sn</i> -глицеро-3-фосфорилхолин)	1.8–2.4	[78]
3-МЭ [9,11- ³ H ₂]эстрадиола (3-МЭ $\Delta^{9(11)}$ эстрадиола)	2.0–2.1	[82]
[β -4,5- ³ H ₂]Холестан-3-он (4-Холестен-3-он)	1.8–1.9	[83]
1-(1',2'- <i>O</i> -ди[10,11- ³ H ₂]ундецил- <i>sn</i> -глицеро-3'-фосфо)- <i>D</i> - <i>мио</i> -инозит-4,5-дифосфат (Бензил[1,2-ди(ундецил)- <i>sn</i> -глицеро]-1- <i>O</i> - [2,6-ди- <i>O</i> -бензоксиметил-3-бензил-4,5-ди- <i>O</i> -добензилфосфо)- <i>D</i> - <i>мио</i> -инозит]фосфат)	4.0–4.2	[84]
Изобутиловый эфир [4- ³ H]бензиловой кислоты (Изобутиловый эфир <i>n</i> -бромбензиловой кислоты)	0.7–1.2	[85]
<i>N,N</i> -Диметиламинэтиловый эфир [4- ³ H]бензиловой кислоты (<i>N,N</i> -Диметиламинэтиловый эфир <i>n</i> -бромбензиловой кислоты)	0.7–1.2	[85]

того метила (3.0–3.1 ПБк/моль) [99]. При этом метку вводят как метилированием вторичных аминов (синтез [³H]RU486 [97], используемого для исследования прогестероновых рецепторов, и [³H]KW-2189.98 – нового эффективного противоопухолевого антибиотика), так и получением метиловых эфиров органических кислот, например, простагландинов [4]. Реакцией тритиймеченого метилмагнийиодида с кетогруппой метку вводили в производные 5, 7-прегнадиена, витамина D₃ [99] и 9-*цис*-ретиноевой кислоты [100].

II.4. Полный химический синтез меченных тритием соединений липидной природы

Как уже отмечалось, метку предпочтительно вводить на последних стадиях синтеза из-за соображений радиационной безопасности и с целью уменьшения количеств используемого, как правило, дорогостоящего меченого реагента. Проблему получения необходимого немеченого предшественника иногда можно упростить, используя соответствующий природный объект (например,

простагландин E₃ для синтеза меченого простагландина E₂), или же модифицируя исходное соединение, например, превращением двойных связей в тройные [47, 48].

Также несложно получить дополнительную двойную связь в некоторых стероидах кипячением их бензольных растворов с 2,3-дихлор-5,6-дициан-1,4-бензохиноном [101]. Если необходимо проводить полный химический синтез меченого соединения, то, как в случае получения [³H]эйкозаполиеновых кислот из эйкозаполииновых [49], сначала проводили многостадийный синтез ацетиленовых предшественников, а затем селективно гидрировали их газообразным тритием. Тот же подход продемонстрирован и при синтезе (17*S*)-[19,20-³H₂]-17,20-диметил-9(*O*)-метано- $\Delta^{6(9\alpha)}$ -простагландина I₁ из аналога изокарбациклина (рис. 2), когда метку удалось ввести на последней стадии [81]. Преимущества введения метки на последних стадиях синтеза так велики, что рациональнее существенно модифицировать уже хорошо отработанный синтез немеченого препарата для получения нужного предшественника и вводить метку на конеч-

ной стадии, чем пользоваться оптимальной схемой синтеза, когда придется вводить метку на начальных стадиях процесса. Это было показано, например, при синтезе (1*R*,2*R*)-*N*-[2-(4-метилпиперидилметил)циклогексил]-4-амино-5-хлор-2-циклопропилметоксибензамида [75].

Классическим примером полного химического синтеза меченого соединения является синтез (1*S*)-гидрокси-5*Z*,8*Z*,10*E*,14*Z*-эйкозатетраеновой кислоты (по схеме, предложенной в работе [102]), где исходный меченый реагент использовался в шестистадийном синтезе. В настоящее время подобными методами пользуются крайне редко. Например, 3-метиловый эфир [9,11-³H₂]эстрадиола [82], полученный тритированием 3-метилового эфира Δ⁹⁽¹¹⁾-эстрадиола (табл. 7), использовали в трехстадийном синтезе 17α-этинил-[9,11-³H₂]эстрадиола (мольная радиоактивность – 2.0 ПБк/моль) и в четырехстадийном синтезе 17α-этинил-19-[9,11-³H₂]нортестостерона (той же мольной радиоактивности). Такой подход связан с невозможностью получения высокомеченых соединений с сохранением ацетиленового фрагмента.

Таким образом, изотопный обмен более предпочтителен, когда соединение устойчиво в условиях обработки его газообразным тритием или тритиевой водой в присутствии катализаторов (при этом не нужны дорогостоящие предшественники). При необходимости получения лабильных высокомеченых соединений, содержащих метку в определенных положениях, достичь поставленной цели невозможно без использования химических методов введения метки.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кейтс М. Техника липидологии: Пер. с англ. М.: Мир, 1975.
2. Evans E.A. Tritium and its Compounds. 2nd Ed. London: Butterworth and Co(Publishers) Ltd., 1974.
3. Shevchenko V.P., Myasoedov N.F. // Isotopes in the Physical and Biochemical Sciences. Vol. 1. Labelled Compounds (Part A) / Eds E. Buncl, J.R. Jones. New York: Elsevier, 1987. P. 237–287.
4. Shevchenko V.P., Myasoedov N.F. // Isotopes in the Physical and Biochemical Sciences. Vol. 1. Labelled Compounds (Part A) / Eds E. Buncl, J.R. Jones. New York: Elsevier, 1987. P. 179–321.
5. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 1988. Т. 30. С. 375–380.
6. Shevchenko V.P., Nagaev I.Yu., Myasoedov N.F. // J. Radioanalyt. Nuclear Chem. 1988. V. 121. P. 479–487.
7. Bergelson L.D., Bukrinskaya A.G., Prokazova N.V., Shaposhnikova G.I., Kocharov S.L., Shevchenko V.P., Kornilaeva G.V., Fomina-Ageeva E.V. // Eur. J. Biochem. 1982. V. 128. P. 467–474.
8. Букринская А.Г., Проказова Н.В., Шапошников Г.И., Кочаров С.Л., Шевченко В.П., Фомина-Агеева Е.В., Бергельсон Л.Д. // Докл. АН СССР. Биохимия. 1982. Т. 263. С. 1481–1484.
9. Проказова Н.В., Михайленко И.А., Преображенский С.Н., Иванов В.О., Шевченко В.П., Репин В.С., Бергельсон Л.Д. // Биол. мембраны. 1986. Т. 3. С. 463–471.
10. Краевская М.А., Каган М.Э., Зинкевич Э.П., Шевченко В.П., Мясоедов Н.Ф., Парфенова Е.В., Эттингер Р.Н. // Сенсорные системы. 1987. Т. 1. С. 127–136.
11. Бабаков А.В., Абрамычева Н.Ю., Билуши С.В., Шевченко В.П. // Биол. мембраны. 1990. Т. 7. С. 107–112.
12. Бабаков А.В., Данилина Э.Е., Шевченко В.П. // Биол. мембраны. 1990. Т. 7. С. 113–118.
13. Камерницкий А.В., Левина И.С. // Хим.-фарм. журнал. 1991. № 10. С. 4–16.
14. Смирнов А.Н., Покровская Е.В., Шевченко В.П., Левина И.С., Камерницкий А.В. // Проблемы эндокринологии. 1998. Т. 44. С. 37–40.
15. Бездетко Г.В., Герман А.В., Шевченко В.П., Митрохин Ю.И., Мясоедов Н.Ф., Дардымов И.В., Тодоров И.Н., Баренбойм Г.М. // Хим.-фарм. журнал. 1981. № 1. С. 28–33.
16. Герман А.В., Бездетко Г.Н., Митрохин Ю.И., Чирков Г.Н., Шевченко В.П., Баренбойм Г.М., Дардымов И.В., Мясоедов Н.Ф., Тодоров И.Н. // Хим.-фарм. журнал. 1982. № 1. С. 26–30.
17. Бездетко Г.Н., Герман А.В., Хасина Э.И., Шевченко В.П., Дардымов И.В., Мясоедов Н.Ф., Баренбойм Г.М., Тодоров И.Н. // Хим.-фарм. журнал. 1982. № 5. С. 528–531.
18. Angelini G., Margonelli A., Ragni P., Sparapani C., Cellai L., Iannelli M.A., Cesta M.C., Lappa S. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1997. V. 39. P. 747–756.
19. Малюгин А.В., Новиков Д.К., Косых В.А., Косенков Е.И., Медведева Н.В., Валентинова Н.В., Штейншнейдер А.Я., Мишарин А.Ю. // Биоорг. химия. 1996. Т. 22. С. 541–547.
20. Бобров М.Ю. Изучение липоксигеназного окисления биологически активных амидов арахидоновой и эйкозапентаеновой кислот. Дис. ... канд. хим. наук. М.: Институт биорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН, 1998. С. 8.
21. Толстиков Г.А., Балтина Л.А., Шульц Э.Э., Покровский А.Г. // Биоорг. химия. 1997. Т. 23. С. 691–709.
22. Doss G.A., Silva C.J., Djerassi C. // Tetrahedron. 1989. V. 45. P. 1273–1282.
23. Cordeiro L.M., Kerr R.G., Djerassi C. // Tetrahedron Lett. 1988. V. 29. P. 2159–2162.
24. Stoilov I.L., Bladocha-Moreau M., Thompson J.E., Djerassi C. // Tetrahedron. 1987. V. 43. P. 2213–2222.
25. Desarnaud F., Cadas H., Piomelli D. // J. Biol. Chem. 1995. V. 270. P. 6030–6035.
26. Thomson S.J., Walton A. // Trans. Faraday Soc. 1957. V. 53. P. 821–824.

27. *Shram S.I., Lazurkina T.Yu., Shevchenko V.P., Nagaev I.Yu., Myasoedov N.F.* // J. Label. Comp. Radiopharm. 1994. V. 34. P. 359–366.
28. *Ивлева И.В., Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1993. Т. 35. С. 99–103.
29. *Ивлева И.В., Шевченко В.П., Шрам С.И., Нагаев И.Ю., Лазуркина Т.Ю., Мягкова Г.И., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1995. Т. 37. С. 258–262.
30. *Shram S.I., Lazurkina T.Yu., Shevchenko V.P., Nagaev I.Yu., Myasoedov N.F.* // J. Label. Comp. Radiopharm. 1998. V. 41. P. 741–753.
31. *Шевченко В.П., Потапова А.В., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1989. Т. 31. С. 75–82.
32. *Shevchenko V.P., Nagaev I.Yu., Myasoedov N.F.* // J. Label. Comp. Radiopharm. 1989. V. 27. P. 1195–1214.
33. *Шевченко В.П., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1989. Т. 31. С. 95–101.
34. *Filikov A.V., Myasoedov N.F.* // J. Phys. Chem. 1986. V. 90. P. 4915–4924.
35. *Filikov A.V., Myasoedov N.F.* // J. Catal. 1991. V. 130. P. 569–576.
36. *Myasoedov N.F.* // J. Label. Comp. Radiopharm. 1993. V. 33. P. 391–401.
37. *Ласкателев Е.В.* Квантово-химическое моделирование твердофазного изотопного обмена водорода в аминокислотах. Дис. ... канд. хим. наук. М.: Институт элементоорганических соединений им. А.Н. Несмеянова РАН, 1997. С. 12.
38. *Шевченко В.П.* // Тез. докл. на II Всесоюзном совещании по проблеме “Физиологически активные соединения, меченные радиоактивными изотопами”. Звенигород, 1988. С. 38–39.
39. *Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1993. Т. 35. С. 126–131.
40. *Augustine R.L., Tompson M.M.* // J. Org. Chem. 1987. V. 52. P. 1911–1915.
41. *Barbier J., Morales A., Marecot P., Maurel R.* // Bull. Soc. Chim. Belg. 1979. V. 88. P. 569–576.
42. *Tanaka K.-I., Okuhara T.* // Catalysis. 1982. V. 78. P. 155–158.
43. *Siegel S., Ontlaw J.Jr., Garti N.* // J. Catal. 1978. V. 52. P. 596–601.
44. *Борисов Ю.А., Золотарев Ю.А., Ласкателев Е.В., Мясоедов Н.Ф.* // Изв. АН. Серия хим. 1996. № 7. С. 1852–1854.
45. *Борисов Ю.А., Золотарев Ю.А., Ласкателев Е.В., Мясоедов Н.Ф.* // Изв. АН. Серия хим. 1997. № 3. С. 428–430.
46. *Shevchenko V.P., Nagaev I.Yu., Myasoedov N.F., Susan A.* // Abstract of Sixth Intern. Symp. on The Synthesis and Applications of Isotopes and Isotopically Labeled Compounds (ISSAIIIC6). Philadelphia; Pennsylvania, 1997. P. 73.
47. *Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф., Куклев Д.В., Имбс А.Б., Латышев Н.А., Безуглов В.В.* // Радиохимия. 1989. V. 31. P. 119–120.
48. *Куклев Д.В., Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Латышев Н.А., Безуглов В.В.* // Биоорганическая химия. 1991. V. 17. P. 1574–1581.
49. *Shevchenko V.P., Myagkova G.I., Lazurkina T.Yu., Dyomin P.M., Shram S.I., Zabolotsky D.A., Nagaev I.Yu., Belosludtsev Yu.Yu., Evstigneeva R.P., Myasoedov N.F.* // J. Label. Comp. Radiopharm. 1989. V. 27. P. 1177–1203.
50. *Нагаев И.Ю., Шевченко В.П., Ивлева И.В., Мягкова Г.И., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1995. Т. 37. С. 263–264.
51. *Coe J.W., Hawes C.R., Towers P.* // Abstracts of 5th Intern. Symp. on The Synthesis and Applications of Isotopes and Isotopically Labeled Compounds. Strasbourg, 1994. P. 127.
52. *Pleiss U., Rosentreter U., Stoltefuss J., Behner O.* // Abstracts of Sixth Intern. Symp. on The Synthesis and Applications of Isotopes and Isotopically Labeled Compounds (ISSAIIIC6). Philadelphia; Pennsylvania, 1997. P. 71.
53. *Камерницкий А.В., Левина И.С., Куликова Л.Е., Галахова Т.Н., Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф., Смирнов А.Н., Покровская Е.В., Шелкунова Т.А.* // Изв. АН. Серия хим. 1997. № 8. С. 1532–1535.
54. *Макквиллин Ф.Дж.* Гомогенное гидрирование в органической химии: Пер. с англ. М.: Химия, 1980.
55. *Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1989. Т. 31. С. 90–95.
56. *Садовская В.Л., Ракитин Л.Ю., Гришина И.И., Краснопольская Л.М., Муромцев Г.С., Шевченко В.П.* // Биоорганическая химия. 1990. Т. 16. С. 1407–1412.
57. *Pichat L.* // Proc. of Second Intern. Symp. on The Synthesis and Applications of Isotopically Labeled Compounds. Kansas City, 1985. P. 133.
58. *Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Потапова А.В., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1993. Т. 35. С. 132–134.
59. *Шевченко В.П.* Синтез и исследование изотопномодифицированных липидов и их аналогов. Дис. ... д-ра хим. наук. М.: Институт молекулярной генетики РАН, 1992. С. 7.
60. *Шевченко В.П., Фараджева С.В., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1998. Т. 40. С. 84–88.
61. *Akulov G.P., Kaminski Ju.L., Korsakova N.A., Kudelin B.K.* // J. Label. Comp. Radiopharm. 1992. V. 31. P. 227–251.
62. *Akulov G.P., Snetkova E.V., Kaminski Ju.L., Kudelin B.K., Efimova V.L.* // J. Label. Comp. Radiopharm. 1991. V. 29. P. 1351–1353.
63. *Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1999. Т. 41. С. 80–81.
64. *Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1994. Т. 36. С. 445–449.
65. *Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1994. Т. 36. С. 440–444.
66. *Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Потапова А.В., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1995. Т. 37. С. 265–269.
67. *Рогов С.И., Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф., Безуглов В.В., Бобров М.Ю., Федосеев В.М.* // Радиохимия. 1997. Т. 39. С. 458–463.
68. *Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф.* // Радиохимия. 1998. Т. 40. С. 75–78.

69. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 1993. Т. 35. С. 106–109.
70. Hinz H.R., Harris N.J., Giovanella B.C., Ezell E.L., Liehr J.G. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1996. V. 38. P. 733–742.
71. Kolbe A., Schneider B., Voigt B., Adam G. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1998. V. 41. P. 131–139.
72. Leseticky L., Sedlak K., Fiser B. // Radioisotopy. 1990. V. 31. P. 163–169.
73. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Потапова А.В., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 1998. Т. 40. С. 70–74.
74. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 1999. Т. 41. С. 82–85.
75. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 1998. Т. 40. С. 79–83.
76. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 1992. Т. 33. С. 172–177.
77. Shevchenko V.P., Nagaev I.Yu., Potapova A.V., Miasoedov N.F., Kamernitsky A.V., Levina I.S., Kulikova L.E., Smirnov A.N. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1998. V. 41. P. 919–925.
78. Do U.H., Hong Y., Tam P., Srinivasan P. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1996. V. 38. P. 117–127.
79. Шевченко В.П., Безуглов В.В., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 1989. Т. 31. С. 116–118.
80. Shevchenko V.P., Bezuglov V.V., Nagaev I.Yu., Miasoedov N.F. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1989. V. 27. P. 1243–1255.
81. Manabe K., Tanaka T., Kurozumi S., Kato Y. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1991. V. 29. P. 1107–1119.
82. Parnes H., Shelton E.J. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1991. V. 29. P. 1157–1165.
83. DiBattista J.P., Webster F.X. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1996. V. 38. P. 1083–1085.
84. Chen J., Prestwich G.D. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1997. V. 39. P. 251–258.
85. Шевченко В.П., Нагаев И.Ю., Мясоедов Н.Ф. // Радиохимия. 1993. Т. 35. С. 97–98.
86. Su X., Siddiqui A., Swaminathan S., Wilson W.K., Schroepfer G.J. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1998. V. 40. P. 63–74.
87. Tait A.D. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1998. V. 40. P. 221–226.
88. Schabdach H., Schroder J., Seifert K. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1998. V. 40. P. 329–336.
89. Schick A., Schwarzmann G., Kolter T., Sandhoff K. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1997. V. 39. P. 441–451.
90. Boumendjel A., Miller S.P.F. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1995. V. 36. P. 377–383.
91. Bravais F., Rao D., Alary J., Rao R.C., Debrauwer L., Bories G. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1995. V. 36. P. 471–477.
92. Sen S.E., Garvin G.M. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1995. V. 36. P. 1063–1069.
93. Dischino D.D., Combrink K.D., Doweiko L., Morimoto H., Pearce B.C., Williams Ph.G., Yevich J.P. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1995. V. 36. P. 789–794.
94. Than C., Morimoto H., Andres H., Williams P.G. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1996. V. 38. P. 693–711.
95. Liu Y.-Y., Chen L. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1996. V. 38. P. 71–76.
96. Nagasaki T., Watanabe F., Katsuyama Y., Hamada Y., Ohtani M., Narisada M. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1992. V. 31. P. 23–38.
97. Mais D.E., Chen L.-Z., Wagoner M.A., Hayes J.S., Wang M.-W. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1995. V. 36. P. 1198–1203.
98. Nagamura S., Kinugawa M., Ogasa T., Saito H. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1997. V. 39. P. 471–477.
99. Watanabe H., Akiyama M., Kawanishi T., Kubodera N. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1995. V. 36. P. 645–654.
100. Tadikonda P.K., Lacy J.M., Rigdon M.G., DeLuca H.F. // J. Label. Comp. Radiopharm. 1997. V. 39. P. 1–10.
101. Kasal A., Fuksova K., Pouzar V. // Collect. Czech. Chem. Commun. 1992. V. 57. P. 2166–2177.
102. Corey E.F., Niwa H. // J. Amer. Chem. Soc. 1978. V. 100. P. 1942–1944.

Synthesis of Tritium Labeled Lipids (Review Article)

V. P. Shevchenko[#] and I. Yu. Nagaev

Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences, pl. Akademika Kurchatova 46, Moscow, 123182 Russia

Recent achievements in the synthesis of lipids and pharmaceuticals labeled with tritium are considered. For introduction of the label into unsaturated compounds, liquid-phase methods were shown to be advantageous over gas-phase ones. Thus, tritiation or selective tritiation of compounds with multiple bonds may result in preparations with a specific radioactivity of 1–2 PBq/mol per one reduced bond, whereas isotope exchange with tritium gas may only provide preparations with a specific radioactivity of approximately 0.1 PBq/mol. Solid phase methods of labeling at temperatures above 100°C are the best for saturated compounds. Isotope exchange with tritium water or chemical methods (when a high molar radioactivity of up to several PBq/mol is necessary) may be used in the case of compounds unstable when treated with gaseous tritium.

Key words: radiolabeled compounds, synthesis, tritium

[#] To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (095) 196-0212; fax: +7 (095) 196-0221.