



УДК 546.110.23:577

ПОЛУЧЕНИЕ МЕЧЕННОЙ ТРИТИЕМ  
2Z-5-(4'-*трет*-БУТИЛ-*транс*-1'-ОКСИ-1'-  
ЦИКЛОГЕКСИЛ)-3-МЕТИЛ-2,4-ПЕНТАДИЕН-1-ОВОЙ  
КИСЛОТЫ

Шезченко В. П., Потапова А. В., Мясоедов Н. Ф.

Институт молекулярной генетики Академии наук СССР,  
Москва

При использовании Pd-катализатора, дезактивированного хинолином, или катализатора Линдлара удалось селективно и с хорошим выходом восстановить 2Z-5-(4'-*трет*-бутил-*транс*-1'-окси-1'-циклогексил)-3-метил-2-пентен-4-ин-1-овую кислоту до 2Z-5-(4'-*трет*-бутил-*транс*-1'-окси-1'-циклогексил)-3-метил-2,4-пентадиен-1-овой кислоты. В результате гидрирования газообразным тритием был получен меченый препарат с высокой молярной радиоактивностью.

Биологическая активность как самой абсцизовой кислоты, так и ее аналогов существенно зависит от геометрии и строения молекулы [1-7]. Эти соединения выполняют разнообразные физиологические функции в высших растениях: ингибируют рост различных частей растений, прорастание семян, клубней; участвуют в процессах, связанных с опаданием листьев, цветков, плодов; играют важную роль в адаптации растений к неблагоприятным условиям внешней среды.

Для исследований распределения в органах растения производных абсцизовой кислоты и изучения механизма их действия необходимы меченные тритием аналоги этих соединений. С этой целью мы отработали условия селективного гидрирования ацетиленового производного аналога абсцизовой кислоты [2Z-5-(4'-*трет*-бутил-*транс*-1'-окси-1'-циклогексил)-3-метил-2-пентен-4-ин-1-овой кислоты] (I) с помощью газообразного трития в присутствии палладиевых катализаторов, отравленных органическими основаниями [8]. Для большей надежности результатов при проведении опытов в многокамерной ампуле [9] в качестве контрольного применяли стандартный раствор метилолеата в диоксане в присутствии 5% Pd/BaSO<sub>4</sub> (таким образом измерялось, сколько метки включалось при гидрировании одной связи). Отношение молярных радиоактивностей полученных меченых образцов и метилстеарата (таблица) давало представление о селективности процесса гидрирования тройной связи до двойной. Как видно из таблицы, молярная радиоактивность при гидрировании ацетиленовой связи до этиленовой с помощью тритий-водородной смеси (1:1000) составила 0,6-1,9 ГБк/ммоль. Лучшая селективность наблюдалась в пиридине с 5% Pd/C, а также в метаноле и диоксане, содержащих хинолин, в присутствии 5% Pd/BaSO<sub>4</sub>. Снижение молярной радиоактивности, по-видимому, связано с наличием в молекулах этого соединения подвижных водородов гидроксильной и карбоксильной групп. Известно [10], что присутствие лабильных протонов в исходном веществе способствует интенсивному изотопному обмену между этими водородами и газообразным тритием. Это приводит к уменьшению молярной радиоактивности гидрирующей газовой смеси, особенно вблизи активных зон катализатора. На поверхности катализатора, таким образом, идут два процесса: гидрирование кратных связей и изотопный обмен между газообразным тритием и подвижными водородами нашего соединения. Если скорость гидрирования велика, то молярная радиоактивность препарата близка к максимальной. Если же скорость гидрирования падает, то снижается и молярная радиоактивность препарата из-за

большого изотопного разбавления газообразного трития подвижными во-  
дородоами молекул вещества.

Скорость гидрирования тройных связей при использовании катализа-  
торов Линдлара выше, чем соответствующая скорость гидрирования двой-  
ных связей [8]. Из этого следует, что молярная радиоактивность препарата,  
полученного селективным восстановлением тройной связи до двойной, долж-  
на быть выше, чем молярная радиоактивность (в расчете на одну гидрирован-  
ную связь) полностью гидрированного продукта. Для проверки этого была  
изучена кинетика включения метки в ацетиленовое производное аналога  
абсцизовой кислоты (I) на катализа-  
торе Линдлара в диоксане и в диокса-  
не в присутствии триэтиламина.

Как видно из рис. 1, падение ско-  
рости введения метки происходит при  
достижении 45—50% той радиоактив-  
ности, которую удавалось ввести в  
полностью гидрированную кислоту.  
Другими словами, при селективном  
гидрировании ацетиленовой связи до  
этиленовой включается 45—50% мет-  
ки, а при гидрировании двух этилено-  
вых связей — всего 50—55% метки,  
т. е. на втором этапе молярная радио-  
активность гидрирующих изотопов во-  
дорода значительно ниже.

Это подтверждено и масс-спектро-  
метрическими данными. На рис. 2а—в  
приведены масс-спектры продукта  
гидрирования кислоты (I) после гид-  
рирования дейтерием в диоксане на  
катализаторе Линдлара за 20, 30 и  
40 мин. Из этих спектров однозначно

следует, что уже через 30 мин все ацетиленовые связи были селективно  
восстановлены. Согласно рис. 2г, д, при использовании активных катали-  
заторов гидрирование происходит неселективно, причем в метаноле гидри-  
рование более полное (фрагменты с  $m/z$  237, 252 и 270). При использова-  
нии в качестве дезактиватора хинолина гидрирование идет селективно  
(рис. 2ж, з, и). Неожиданные данные были получены при использовании  
пиридина в качестве растворителя (рис. 2е). Оказалось, что в реакционной  
смеси присутствовали как исходный, так и полностью гидрированные про-

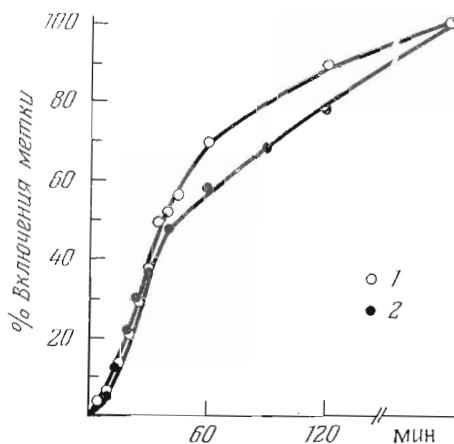


Рис. 1. Кинетика включения тритиевой метки в аналог абсцизовой кислоты (I) в присутствии катализатора Линдлара: 1 — растворитель — диоксан, 2 — растворитель — диоксан в присутствии  $\text{Et}_3\text{N}$ , соотношение катализатор — амин равно 1:2

#### Селективность гидрирования ацетиленового производного аналога абсцизовой кислоты в зависимости от условий проведения реакции

| Катализатор             | Раство-<br>ритель | Селектив-<br>ность<br>процесса,<br>м.р. (II)/м.р.<br>StOMe * | Катализатор             | Раство-<br>ритель       | Селектив-<br>ность<br>процесса,<br>м.р. (II)/м.р.<br>StOMe * |
|-------------------------|-------------------|--------------------------------------------------------------|-------------------------|-------------------------|--------------------------------------------------------------|
| 5% Pd/C                 | Пиридин           | 0,96                                                         | 5% Pd/C                 | Этилацетат              | 1,85                                                         |
| 5% Pd/BaSO <sub>4</sub> | »                 | 0,30                                                         | 5% Pd/BaSO <sub>4</sub> | Этилацетат —<br>хинолин | 1,29                                                         |
| 5% Pd/C                 | Бензол            | 1,12                                                         | 5% Pd/C                 | Хлороформ               | 2,33                                                         |
| 5% Pd/BaSO <sub>4</sub> | »                 | 0,68                                                         | 5% Pd/BaSO <sub>4</sub> | Хлороформ —<br>хинолин  | 0,60                                                         |
| 5% Pd/C                 | Хинолин           | 1,35                                                         | 5% Pd/BaSO <sub>4</sub> | Диоксан —<br>хинолин    | 0,76                                                         |
| 5% Pd/BaSO <sub>4</sub> | Метанол           | 1,07                                                         | 5% Pd/BaSO <sub>4</sub> | То же **                | 0,88                                                         |
|                         | Хинолин           |                                                              |                         |                         |                                                              |

\* м.р. — молярная радиоактивность аналога абсцизовой кислоты (II). м.р. StOMe — моляр-  
ная радиоактивность метилстеарата, полученного при гидрировании метилолеата (м.р. StOMe  
равняется 1,9—1,95 ГБк/ммоль).

\*\* В этом случае соотношение использованных количеств 5% Pd/BaSO<sub>4</sub> — хинолин равня-  
лось 1:1.

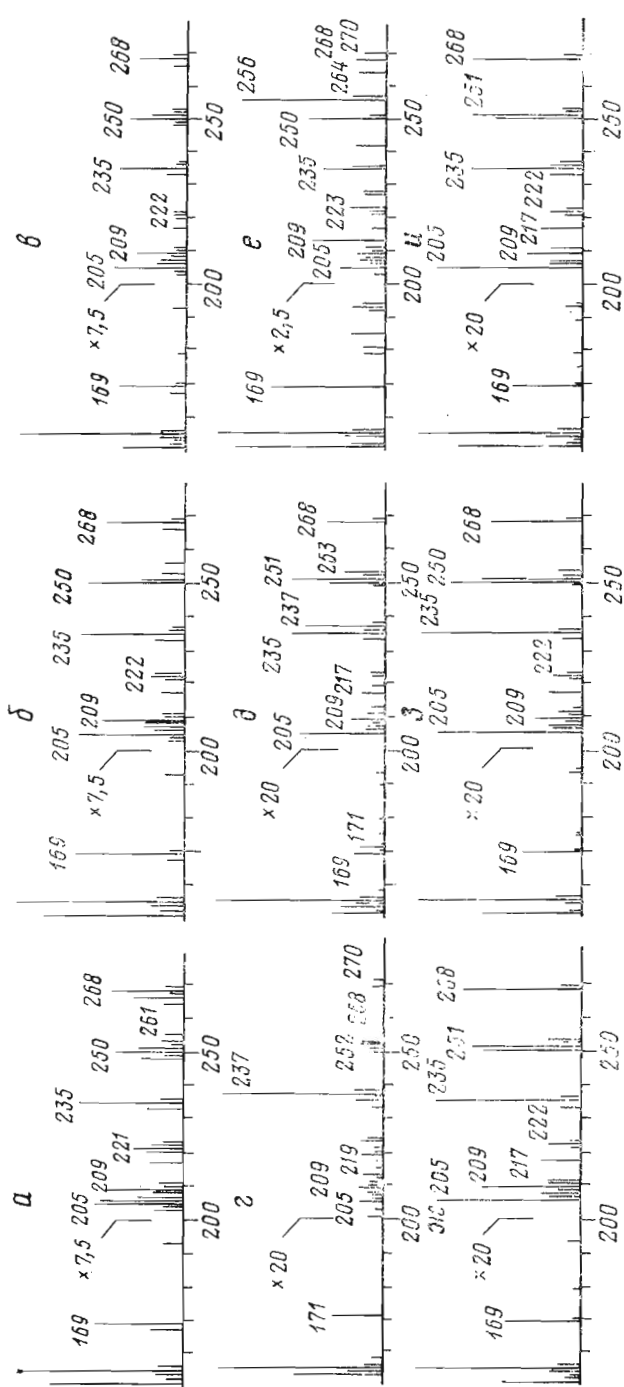
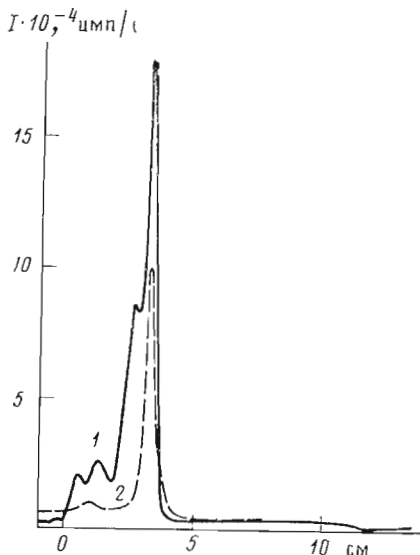


Рис. 2. Масс-спектры ацетиленового производного аналога абсорбирующей кислоты (I) после обработки его дейтерием: а -- катализатор Линдлара, растворитель -- диоксан, время реакции 20 мин; б -- катализатор Линдлара, диоксан, 30 мин; в -- катализатор Линдлара, диоксан, 40 мин; г -- 5% Pd/BaSO<sub>4</sub>, метанол, 3 ч; д -- 5% Pd/BaSO<sub>4</sub>, диоксан, 3 ч; е -- 5% Pd/BaSO<sub>4</sub>, пиридин, 3 ч; ж -- 5% Pd/BaSO<sub>4</sub>, метанол, дезактиватор хинолин, 3 ч; з -- 5% Pd/BaSO<sub>4</sub>, диоксан, хинолин, 3 ч; и -- 5% Pd/BaSO<sub>4</sub>, бензол, хинолин, 3 ч.

Рис. 3. Распределение радиоактивности вдоль пластинки (силуфон) после гидрирования ацетиленового аналога абсцизовой кислоты (II) газообразным тритием в присутствии Pd-катализатора: 1 — до, 2 — после хроматографической очистки



дукты. Самым интенсивным пиком в области 200–300  $m/z$  был фрагмент с  $m/z$  256, являющийся, как следует из анализа других спектров, дегидратационным ион-радикалом, т. е. молекулярный ион-радикал имеет  $m/z$  274. Такая молекула должна быть прогидрирована четырьмя атомами дейтерия и двумя атомами водорода, что является еще одним доказательством участия подвижных водородов молекул кислоты (I) в процессе изотопного разбавления гидрирующей смеси и объясняет снижение молярной радиоактивности при использовании газообразного трития.

Для селективного гидрирования кислоты (I) до 2Z-5-(4'-*трет*-бутил-*транс*-1'-окси-1'-циклогексил)-3-метил-2,4-пентадиен-1-овой кислоты (II) концентрированным тритием был использован 5% Pd/BaSO<sub>4</sub>, дезактивированный хинолином (соотношение катализатор — амин составило 1:1) в диоксане. Начальное давление газообразного трития 400 гПа. Реакцию провели за 3 ч при 20° С. После хроматографической очистки получен [<sup>3</sup>H]-(II) с выходом 15% и молярной радиоактивностью 1,2 ТБк/ммоль (рис. 3).

### Экспериментальная часть

2Z-5-(4'-*трет*-бутил-*транс*-1'-окси-1'-циклогексил)-3-метил-2-пентен-4-ин-1-овая кислота (I) (т. пл. 150–151° С, масс-спектр,  $m/z$  (относительная интенсивность, %):  $M^+$  264(4),  $(M-H_2O)^+$  246(0,5),  $(M-H_2O-CH_3)^+$  231(3), 219(33), 207(9), 189(3), 166(15), 152(11), 147(10)) и 2Z-5-(4'-*трет*-бутил-*транс*-1'-окси-1'-циклогексил)-3-метил-2,4-пентадиен-1-овая кислота (II) (т. пл. 137–138° С, масс-спектр,  $m/z$  (относительная интенсивность, %):  $M^+$  266 (21),  $(M-H_2O)^+$  248(9),  $(M-H_2O-CH_3)^+$  233(7), 221(12), 209(3), 206(24), 191(14), 167(15), 155(28), 149(25)) любезно предоставлены Л. Г. Исaeвой (ИБХ им. М. М. Шемякина АН СССР). 5% Pd/BaSO<sub>4</sub>, катализатор Лийдлара (Fluka, Швейцария), 5% Pd/C (Fluka, Швейцария) — коммерческие препараты. Растворители очищали по стандартным методикам. Радиоактивность измеряли на сцинтилляционном счетчике с эффективностью регистрации трития ~30% в диоксановом сцинтилляторе. ГЖХ осуществляли на хроматографе Chrom 5 (ЧССР), снабженном колонкой (2000×3 мм, 5% SE-30, Chromaton N-AW 100—125 мк, 220° С, расход газа 25 мл/мин, газ-носитель — азот). Масс-спектры снимали с непосредственным вводом образца в ионный источник на приборе LKB-9000 (Швеция).

Гидрирование кислоты (I) тритием и дейтерием проводили следующим образом: раствор ацетиленового производного (0,1–0,2 мл) помещали в реакционную ампулу [9], добавляли катализатор (весовое соотношение вещество — катализатор равно 1:2) и дезактивирующий амин (весовое

соотношение катализатор — амин 1:2), замораживали жидким азотом и вакуумировали до давления  $1 \cdot 10^{-3}$  гПа, заполняли газовой смесью, содержащей изотопы водорода, до давления 400 гПа, размораживали и перемешивали 3 ч. После окончания реакции лабильный изотоп водорода удаляли трехкратным упариванием реакционной массы с метанолом. Для удаления дезактивирующего аммиака остаток после упаривания растворяли в 2 мл этилацетата и промывали 2 раза 0,5 мл 1 н. HCl, 2 раза 0,5 мл H<sub>2</sub>O, упаривали досуха и растворяли в 0,2 мл диоксана. Высокомеченую кислоту (II) очищали хроматографией на силикагельных пластинках (Merck, ФРГ), *R<sub>f</sub>* 0,45 (бензол — этилацетат, 3:1). [<sup>3</sup>H]-(II) элюировали с силикагеля 30 мл смеси хлороформа с метанолом (2:1), упаривали, растворяли в 100 мл этанола и хранили при -10°С. Радиохимическая чистота препарата после очистки была не менее 95—97%.

При кинетических исследованиях пробы отбирались шприцем через определенные интервалы времени. Затем реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение 22 ч, полученную радиоактивность принимали за 100% и пересчитывали все предыдущие значения (относительно максимального) в процентах. Пробы анализировали тонкослойной хроматографией на силиуфол (ЧССР) в системе бензол — этилацетат (3:1). Зоны, содержащие меченое соединение (*R<sub>f</sub>* 0,3—0,4) и имеющие хроматографическую подвижность, тождественную хроматографической подвижности заведомой кислоты (II), вырезали и определяли ее радиоактивность. Концентрацию кислоты (II) определяли при помощи ГЖХ после метилирования проб диазометаном. Используемые растворители, катализаторы, амины-дезактиваторы и молярные радиоактивности меченых соединений приведены в таблице и на рис. 2.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Burden R. S., Taylor H. F. Pure and Appl. Chem., 1976, v. 47, p. 203—209.
2. Петрова В. Н. Ботан. журн. Сер. хим. н., 1976, т. 61, № 7, с. 1004—1016.
3. Пасешиченко В. А. В кн.: Рост растений. Первичные механизмы. М.: Наука, 1978, с. 98—126.
4. Пона Д. П., Кучкова К. Н. Изв. АН МолдССР. Сер. биол. и хим. н., 1975, № 5, с. 27—42.
5. Walton D. C. Annual Rev. Plant Physiol., 1980, v. 31, p. 453—489.
6. Gross D. Pharmazie, 1972, v. 27, № 10, p. 619—630.
7. Milborrow B. V. Annual Rev. Plant Physiol., 1974, v. 25, p. 259—307.
8. Физер Л., Физер М. В кн.: Реагенты для органического синтеза. М.: Мир, 1970, т. 2, с. 136—137.
9. Шевченко В. П., Мясоедов Н. Ф., Бергельсон Л. Д. Биоорг. химия, 1979, т. 5, № 5, с. 730—733.
10. Эванс Э. В кн.: Третий и его соединения. М.: Атомиздат, 1970, с. 115—118.

Поступила в редакцию  
26.VI.1985

#### PREPARATION OF TRITIATED 2Z-5-(4'-*tert*-BUTYL-*trans*-1'-HYDROXY-1'-CYCLOHEXYL)- 3-METHYL-2,4-PENTADIENOIC-1 ACID

SHEVCHENKO V. P., POTAPOVA A. V., MYASOEDOV N. F.

*Institute of Molecular Genetics, Academy of Sciences of the USSR,  
Moscow*

We have carried out selective hydrogenation of acetylenic bond in 2Z-5-(4'-*tert*-butyl-*trans*-1'-hydroxy-1'-cyclohexyl)-3-methyl-2-pentene-4-yn-1-oic acid (ADAAA) into double bond using palladium catalyst inactivated with lead (the Lindlar catalyst) or with quinoline. In the similar process with gaseous tritium, we obtained, with good yield, a labelled preparation possessing high molar radioactivity.