



УДК 547.857.7'11*3.057 : 542.973.2

© 1993 О. В. Лушкина, Г. В. Сидоров,
Н. Ф. Мясоедов

ТВЕРДОФАЗНЫЙ СИНТЕЗ МЕЧЕННЫХ ТРИТИЕМ ЦИТОКИНИНОВ

Институт молекулярной генетики РАН, Москва

Исследовано влияние различных палладиевых катализаторов, соотношения компонентов твердой фазы и температуры на выход и величину молярной активности цитокининов в реакции изотопного обмена с газообразным тритием. Объектами для исследования выбраны 6-бензиламинопуридин и кинетин. Синтезированы меченные тритием 6-бензиламинопуридин и кинетин (150 Ки/ммоль).

Цитокинины относятся к природным соединениям, ускоряющим прорастание и цветение, задерживающим увядание растений. В концентрациях 10^{-3} — 10^{-5} моль/л они стимулируют клеточное деление. Физиологическое действие цитокининов на молекулярном уровне не выяснено. Это определяет интерес к изотопномеченым цитокининам, в частности меченым тритием.

Цитокинины представляют собой 6-замещенные аминопурины, поэтому основные способы введения трития в эти соединения связаны с алкилированием [^3H]аденина [1] и [^3H]аденозина [2]. Количество известных цитокининов достаточно велико [3]. В связи с этим целесообразна разработка единого подхода к получению этих соединений, меченных тритием. Эффективный способ введения трития в физиологически активные соединения состоит в их реакции в твердой фазе с газообразным тритием, без растворителя. Этим способом синтезированы меченые пуриновые основания со степенью замещения трития, близкой к теоретической [4].

Цель настоящей работы — изучение реакции твердофазного синтеза в применении к цитокининам. Объектами для исследования были выбраны наиболее распространенные представители этого класса — кинетин (KIN) и 6-бензиламинопуридин (BAP). Изучали влияние различных катализаторов на основе палладия, соотношения компонентов твердой фазы и температуры на выход и молярную активность ($A_{\text{мол}}$) целевых соединений.

Из представленной таблицы видно, что природа носителя палладиевого катализатора существенно влияет на выход и величину молярной активности исследуемых соединений, причем наиболее сильная деградация происходит на катализаторах, содержащих оксид алюминия. Но четкой корреляции между степенью включения трития в исследуемые соединения и природой носителя палладиевого катализатора не прослеживается. Так, для KIN заслуживает внимания дальнейшее изучение реакции с применением катализатора Pd/BaSO₄, для BAP — Pd/CaCO₃.

По зависимости выхода KIN и BAP и величины их молярной активности от температуры реакции видно (рис. 1, 2), что с повышением температуры увеличивается степень включения трития, но практически пропорционально снижается

Сокращения: KIN — кинетин, BAP — 6-бензиламинопуридин.

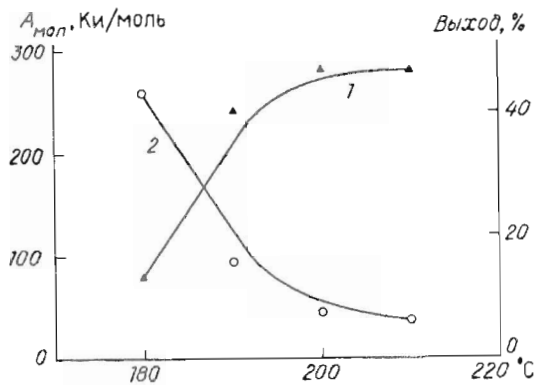


Рис. 1. Зависимость молярной радиоактивности (1) и выхода (2) $[^3\text{H}]\text{KIN}$ от температуры реакции (катализатор Pd/BaSO_4)

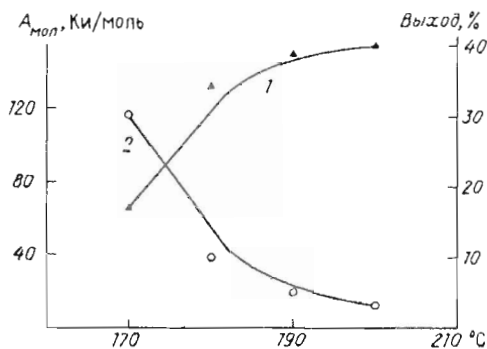


Рис. 2. Зависимость молярной радиоактивности (1) и выхода (2) $[^3\text{H}]\text{BAP}$ от температуры реакции (катализатор Pd/CaCO_3)

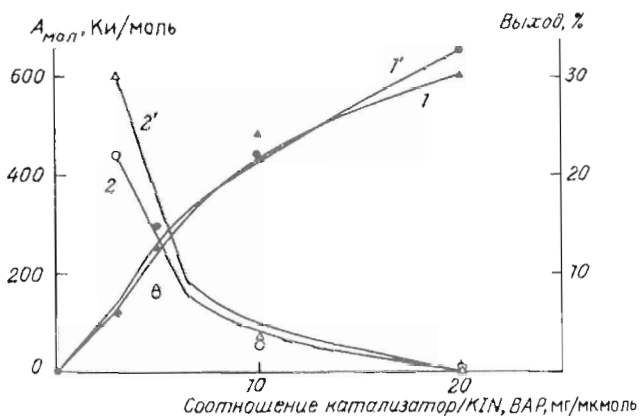


Рис. 3. Зависимость молярной радиоактивности (1, 1') и выхода (2, 2') $[^3\text{H}]\text{KIN}$ и $[^3\text{H}]\text{BAP}$ от соотношения компонентов твердой фазы (катализатор Pd/BaSO_4)

Влияние природы катализатора на величину включения трития в кинетин и 6-бензиламинопурин

Исходное соединение	Катализатор	Целевое соединение	
		Амол, Ки/моль	Выход, %
Кинетин	Pd/Al ₂ O ₃	124	4,0
	Pd/BaSO ₄	67	30,0
	Pd/CaCO ₃	40	12,5
6-Бензиламинопурин	Pd/Al ₂ O ₃	121	1,3
	Pd/BaSO ₄	207	1,2
	Pd/CaCO ₃	62	43,0

* Температура реакции: для кинетина — 170° С; для 6-бензиламинопурина — 180° С.

выход целевых соединений; таким образом, препараты с высокой молярной активностью образуются лишь с низким выходом.

Степень включения трития в KIN и ВАР зависит и от состава твердой фазы: увеличение массовой доли катализатора в реакционной смеси приводит как к увеличению степени включения трития, так и к падению выхода целевого соединения (рис. 3).

Приведенные данные показывают, что реакция твердофазного синтеза открывает широкие возможности получения меченных тритием цитокининов. Варьирование катализаторов, температуры реакции и состава твердой фазы позволяет изменять молярную активность и выход целевых соединений в зависимости от поставленной задачи в широком диапазоне. Помимо этого при оптимизации условий реакции удалось получить соединения, практически полностью замещенные тритием («тотально» меченные, со степенью замещения до 95%). Так, меченный тритием KIN был получен с молярной активностью 150 Ки/ммоль (91% от теоретической, выход 12,5%) при 140° С с использованием катализатора Pd/BaSO₄, а меченный тритием ВАР — с молярной активностью 155 Ки/ммоль (92% от теоретической, выход 13%) при 190° С с применением катализатора Pd/CaCO₃.

Экспериментальная часть

6-Бензиламинопурин, кинетин — коммерческие препараты. Катализаторы — 5% Pd/CaCO₃, 5% Pd/BaSO₄, 5% Pd/Al₂O₃ (Fluka). Растворители очищали по стандартным методикам. Выход KIN и ВАР определяли спектрофотометрически. Радиоактивность измеряли на сцинтилляционном счетчике с эффективностью регистрации трития около 30% в диоксановом сцинтилляторе. Для анализа полученных соединений использовали ТСХ на пластинках Silufol (ЧСФР) в системах растворителей: хлороформ — метанол (3 : 1) для KIN (R_f 0,45) и хлороформ — метанол (7 : 4) для ВАР (R_f 0,40). Для измерения распределения радиоактивности вдоль пластинки использовали Bertold/2027 (ФРГ). Кроме того, анализ полученных продуктов проводили с помощью ВЭЖХ (колонка Searon SGX C18,5 мкм, 3,3 × 150 мм, ЧСФР), 36% метанола в 0,1 М ТЕАВ (рН 7), 0,5 мл/мин (время удерживания 12,3 мин для KIN, 14,5 мин для ВАР). Препаративную очистку меченных тритием KIN и ВАР осуществляли с помощью ВЭЖХ в таких же условиях.

Получение меченных тритием кинетина и 6-бензиламинопурина. ВАР и KIN наносили на катализатор и помещали в стеклянные ампулы, которые насыщали газообразным тритием (300 мм рт. ст.) и термостатировали 30 мин при выбранной температуре. При изучении реакции и выборе условий использовали тритий-противую (1 : 1000) смесь. Синтез меченных тритием препаратов проводили в

среде высокопроцентного (95%) трития. После удаления из ампул газообразного трития продукты смывали метанолом, центрифугировали, раствор упаривали и выделяли целевые продукты хроматографически. [³H]Кинетин с уд. акт. 150 Ки/ммоль и [³H]6-бензиламинопурин с уд. акт. 155 Ки/ммоль хранили в этаноле при 0° С с концентрацией 5 мКи/мл.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Laloue M., Fox Y. E. // *Phytochemistry*. 1987. V. 4. № 4. P. 987—992.
2. Hanuê Y., Korel Y. // *Thesis of 12th Radichemical Conference (Marianski Larne, May 7—11)*. 1990. P. 30.
3. Гудвин Т., Мерсер Э. Введение в биохимию растений. М.: Мир, 1986. Т. 2. С. 238—339.
4. Myasoedov N. F., Sidorov G. V., Lushkina O. V. // *4th Int. Symp. on the Synthesis and Appl. of Isotopes and Isotopically Labelled Comp. (Toronto, Sept. 3—7)*. 1991. P. 127.

Поступила в редакцию
22.VI.1992

O. V. LUSHKINA, G. V. SIDOROV, N. F. MYASOEDOV

SOLID PHASE SYNTHESIS OF TRITIUM-LABELLED CYTOKININES

Institute of Molecular Genetics, Russian Academy of Sciences, Moscow

Effects of various palladium catalysts, ratio of solid phase components and temperature on the yield and specific activity of cytokinines in the isotopic exchange reaction with gaseous tritium have been investigated. Tritium-labelled 6-benzylaminopurine and kinetine are synthesized (150 Ci/mmol).