

УДК 547.4/.8:543.52

Исследования свойств серосодержащих органических соединений методами радионуклидной диагностики

А. А. Мандругин, Т. П. Трофимова, В. М. Федосеев, С. Я. Проскуряков

АНДРЕЙ АЛЕКСАНДРОВИЧ МАНДРУГИН — доктор химических наук, профессор, ведущий научный сотрудник кафедры радиохимии Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов: органический синтез, механизмы органических реакций, медицинская химия, радиохимия, меченые соединения. E-mail mandrug@radio.chem.msu.ru

ТАТЬЯНА ПЕТРОВНА ТРОФИМОВА — кандидат химических наук, научный сотрудник кафедры радиохимии Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов: органический синтез, механизмы органических реакций, медицинская химия, радиохимия, меченые соединения. E-mail trof@radio.chem.msu.ru

ВЛАДИМИР МИХАЙЛОВИЧ ФЕДОСЕЕВ — доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой радиохимии Химического факультета МГУ им. М.В. Ломоносова. Область научных интересов: органический синтез, механизмы органических реакций, медицинская химия, радиохимия, меченые соединения. E-mail fedoseev@radio.chem.msu.ru

СЕРГЕЙ ЯКОВЛЕВИЧ ПРОСКУРЯКОВ — кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник Медицинского радиологического научного центра РАМН (г. Обнинск). Область научных интересов: медицинская химия, радиохимия, меченые соединения. E-mail po0@mrrc.obninsk.ru

119992 Москва, Ленинские горы, д. 1, Химический факультет МГУ им. М.В. Ломоносова, факс (495) 939-31-87.

Метод радионуклидной диагностики получил широкое распространение во многих областях химии, физики, биологии и медицины. Применение радионуклида серы ^{35}S (β -излучатель, $E_{\text{макс}} = 0,167 \text{ МэВ}$, $T_{1/2} = 87 \text{ сут}$ [1]) в органической химии дает возможность осуществлять следующие направления исследований: детально изучать кинетические закономерности реакций образования серосодержащих веществ и их химических превращений; выбирать оптимальные условия получения и выделения новых соединений; рассматривать различные аспекты механизмов химических реакций, в том числе оценивать прочность связи атомов серы между собой и с другими элементами в молекуле, устанавливать места разрывов этих связей; обнаруживать промежуточные вещества и фиксировать обратимость ряда процессов [2].

Впервые изотоп серы ^{35}S был получен в 1939 г. на циклотроне в Беркли (Калифорния, США). К этому же году относятся и первые работы с использованием этого изотопа. Исследования Х. Тарвера и К. Шмидта (кафедра биохимии Калифорнийского университета) были посвящены исследованию обмена серы в серосодержащих аминокислотах. С использованием изотопа ^{35}S они доказали, что цистеин превращается в метионин и что эта реакция обратима [3, 4].

Для введения радиоактивной серы в органические молекулы используют химические методы [5–7], изотопный обмен [8], биосинтез и ферментативный синтез [9–11], а также специальные ядерно-химические методы [12, 13].

Установление места разрыва связей в молекулах с использованием изотопов серы

Известно, что 4-алкил-2,6,7-триокса-1-фосфабицикло[2.2.2]октан-1-тиоксиды (бициклотионфосфаты), являясь селективными блокаторами Cl^- -проводящих каналов, обладают исключительно высокой физиологической активностью и токсичностью. Меченые радионуклидами соединения этого класса используются в настоящее время как радиолиганды в нейробиологии и нейрофармакологии [14–16]. Для получения меченых серой ^{35}S бициклотионфосфатов была исследована возможность изотопного обмена в системе 4-этилбициклотионфосфат **1** — элементная сера ^{35}S [7]. Предположили, что соединение **1** вследствие стерической доступности атома фосфора в структуре и способности образовывать спиросоединения может через спироинтермедиат **2** участвовать в изотопном обмене. Реакцию проводили в толуоле, в смеси толуола и амиллового спирта (1 : 1) или без растворителя при 60–120 °С. Состав реакционных смесей анализировали методом тонкослойной радиохроматографии. Установлено, что в этих условиях реакция изотопного обмена не идет (схема 1). Следует отметить, что нециклическое производное фосфора — тиофосфорилхлорид — может быть получено с высокой удельной радиоактивностью изотопным обменом тиофосфорилхлорида с элементной серой ^{35}S [6].

При получении S-аллилизотиомочевина, меченной серой ^{35}S , впервые было обнаружено, что ее синтез

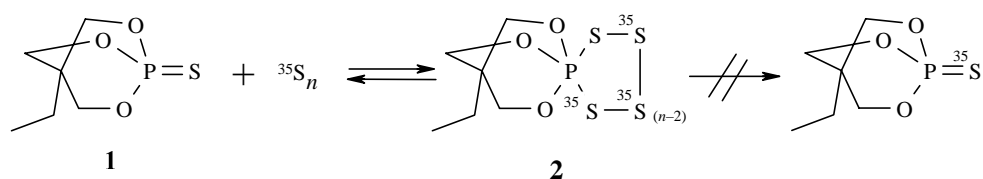


Схема 1

можно осуществить не только прямым аллилированием $[^{35}\text{S}]$ тиомочевины, но и с помощью «фрагментарного» обмена изотиомочевины **3** с меченым тиокарбамидом **4**, легко проходящем при нагревании веществ в этиловом спирте [17]. Обмен происходит в результате миграции радиоактивного атома в составе тиоамидного фрагмента. Реакция обратима, что подтверждается обратным обменом $[^{35}\text{S}]$ аллилизотиомочевины **5** с немеченой тиомочевиной (схема 2).

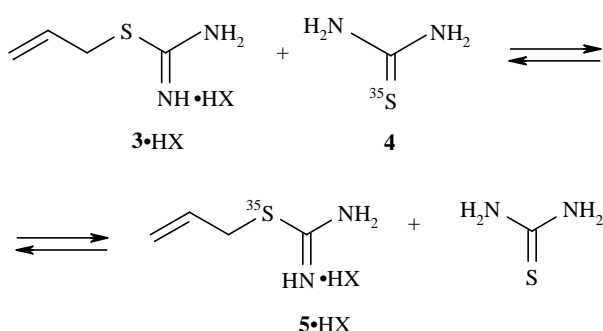


Схема 2

Процесс обмена описывается уравнением обратимой реакции первого порядка. Порядок реакции определяли по зависимости начальной скорости от исходной концентрации реагентов; скорость реакции практически не зависит от концентрации тиомочевины. Механизм обмена, по-видимому, подобен мономолекулярному механизму S_N1 и включает образование промежуточной катиоидной структуры аллильного типа, обладающей высокой избирательностью по отношению к тиомочевине.

Показано [18], что в фрагментарный обмен вступают также S-бензилизотиомочевины и 2-амино-4-оксо-2-тиазолин **6**, однако в последнем случае механизм реакции включает стадию рециклизации гетероцикла (схема 3).

N-Аллилтиомочевины и S-алкилизотиомочевины [18] не обмениваются фрагментом тиомочевины даже в более жестких условиях (при длительном кипячении в водном спирте, воде, ДМФА).

$[^{35}\text{S}]$ Аллилизотиомочевина **5** при хранении в растворах (в спиртах, водно-спиртовых смесях, ДМФА) или в

кристаллическом виде (гидробромид, перхлорат и пикрат изотиомочевины) претерпевает авторадииолитическое разложение с выделением заметного количества меченой $[^{35}\text{S}]$ тиомочевины [19]. Тонкослойной радио-хроматографией показано, что при хранении гидробромида $[^{35}\text{S}]$ аллилизотиомочевины (0,05 Ки/моль) при 5°C в кристаллическом виде и в виде этанольного раствора (0,5 моль/л) в течение 30 дней образуется соответственно 10% и 17% меченой тиомочевины. Такой же эффект обнаружен и в случае S- $[^{14}\text{C}]$ аллилизотиомочевины. Вероятно причина этого эффекта — воздействие на меченую аллилизотиомочевину первичных продуктов радиолитической среды (электронов, гидроксил-радикалов и т.д.), приводящее к распаду молекулы.

При синтезе меченой N-аллилтиомочевины изотопным обменом с элементной $[^{35}\text{S}]$ реакция сопровождается образованием побочного вещества с многократным включением метки, по-видимому, продукта присоединения серы по двойным C=C- и C=S-связям [19]. Относительное содержание этого продукта растет при использовании в реакции ряда растворителей: смесь *n*-ксилол—этанол (5% от всей радиоактивности в смеси обнаруживается в виде этого продукта) < этанол (15%) << ДМФА (45—60%). Вероятно N-аллилтиомочевина выступает в данном случае как «ловушка» реакционноспособных частиц, образующихся вследствие авторадииолитической меченой элементной серы.

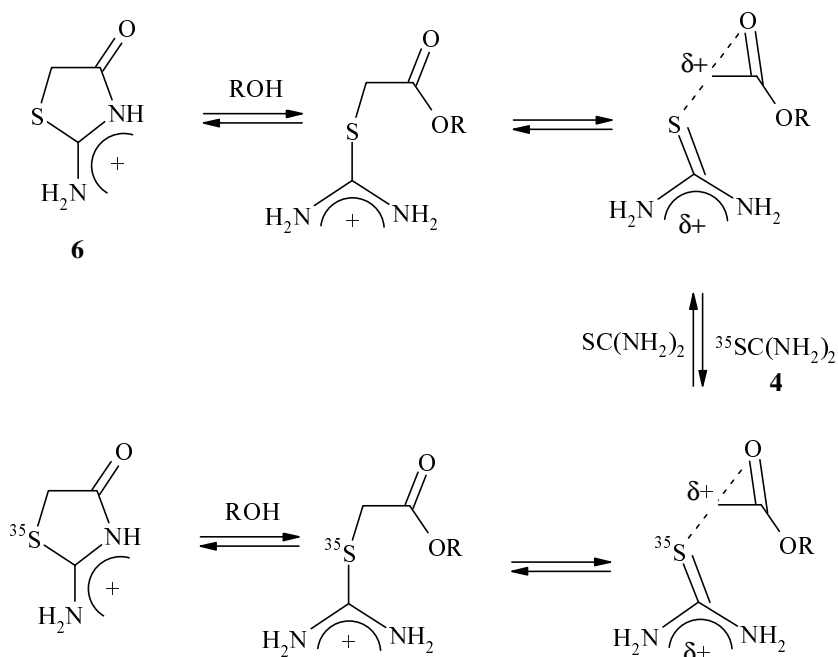


Схема 3

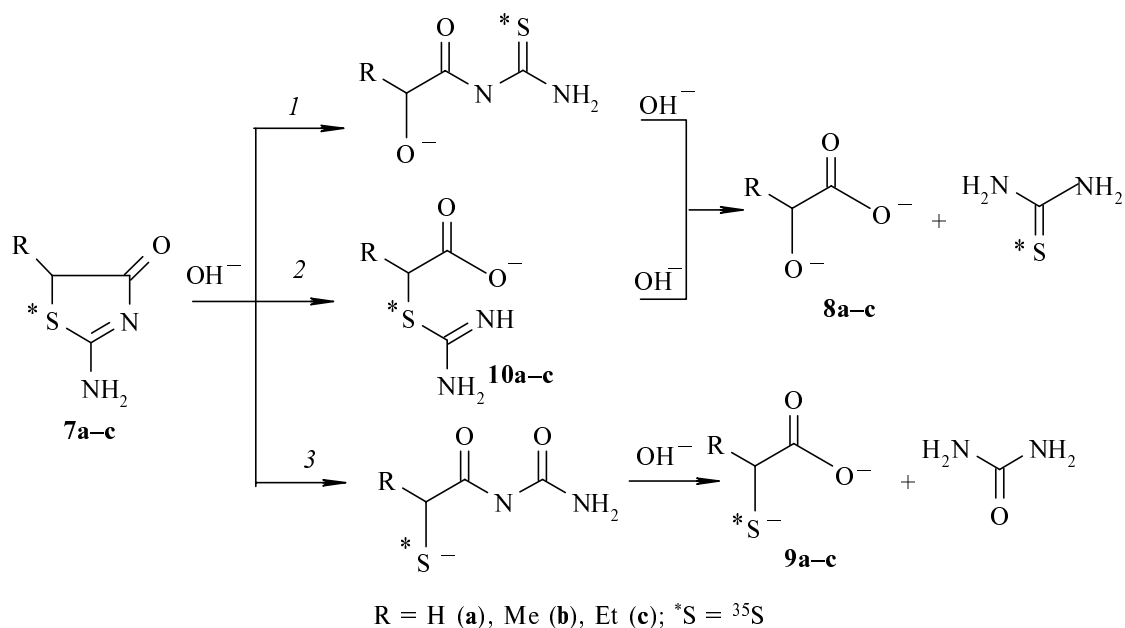


Схема 4

Механизмы и кинетические исследования некоторых реакций органических соединений, содержащих серу

Изучение возможных направлений реакций

Методом радионуклидной диагностики исследовано превращение [³⁵S]2-амино-2-тиазолидинона-4 **7a** и его 5-метил- и 5-этилпроизводных **7b,c**, а также [¹⁴C]2-амино-2-тиазолидинона-4 в водных растворах щелочи [20] (схема 4).

Ранее предполагали, что в водных растворах при pH > 7 соединения **7a-c** разлагаются с образованием мочевины, тиомочевины, 2-гидрокси-**8a-c** и 2-меркаптокарбоновых кислот **9a-c** и что при таком составе продуктов реакции первоначально происходит раскрытие цикла в соединении **7** по связи S—C₍₅₎ или S—C₍₂₎ (см. схему 4, путь 1 или 3). При наличии лактамной группировки в соединении **7** в рассматриваемых условиях гетероцикл может раскрываться по связи N₍₃₎—C₍₄₎ (см. схему 4, путь 2). Во всех случаях при разной глубине превращения мочевины не была обнаружена, следовательно путь 3 не реализуется. Образование S-(1-карбоксиметил)изоотиомочевин **10a-c** свидетельствует о реализации пути 2, т.е. происходит раскрытие цикла по эндоциклической связи в соответствии с механизмом, близким гидролизу лактамов в щелочной среде.

Изучена перегруппировка некоторых β-галогенсульфидов в реакциях со свободными металлами [21]. При исследовании восстановления меченых ³⁵S-(2-бромэтил)изоотиомочевин цинковой пылью в спирте и хлороводородной кислоте установлено, что продуктами реакции являются только тиомочевина и соответствующие непредельные соединения. Специальным опытом была доказана устойчивость связи C—S в солях 3-амино- и 3-карбоксивпропилизоотиомочевин к действию металлов. Это означает, что разрыв связи C—S в ходе восстановления определяется присутствием галогена в β-положении к атому серы.

С использованием ³⁵S показано [22], что в цепи последовательно-параллельных реакций 3-амино-2-бромпропионовой кислоты **11** с тиомочевинной **4** образуются S-(2-амино-1-карбоксиэтил)изоотиомочевина **12**, 2-амино-2-тиазолин карбоновая-5 кислота **13** и 2-амино-5-аминометил-2-тиазолинон-4 **14** (схема 5).

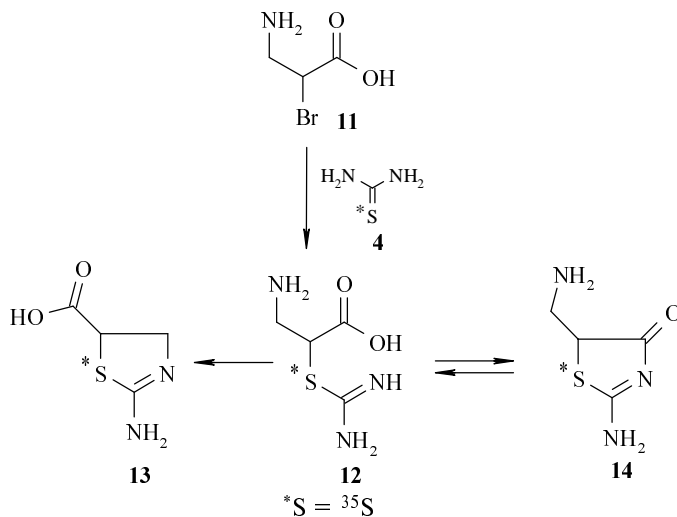


Схема 5

Показано [23], что гетероциклизация N-аллилтиомочевины, меченной серой ³⁵S, под действием протонных кислот приводит к целому ряду соединений, что противоречит результатам синтетической практики, использующей эту реакцию для количественного получения производных 5-метил-2-амино-2-тиазолина. Анализ реакционных смесей циклизации немеченой N-аллилтиомочевины показал, что практически единственным ее продуктом при нагревании в водных растворах протонных кислот (HCl, HBr,

H_2SO_4) является 5-метил-2-амино-2-тиазолин **15**. При этом в следовых количествах образуется изомерный 2-амино-5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазин **16** ($\leq 1,5\%$) (схема 6).

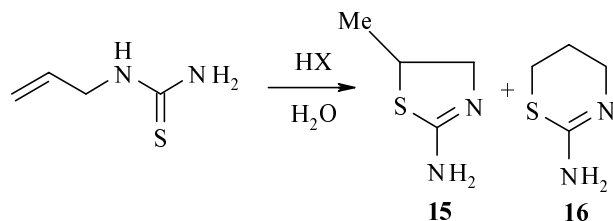


Схема 6

В этих же условиях циклизация N-аллилтиомочевины **17**, меченной ^{35}S , приводит к образованию помимо соединений **15** и **16** аномальных продуктов реакции — 5-галогенметил-2-амино-2-тиазолинов **18a,b** и 5-галоген-2-амино-5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазинов **19a,b**. При действии на соединение **17** раствора серной кислоты образуются соединения **15**, **16** и 5-гидроксиметил-2-амино-2-тиазолин **20** (схема 7).

Особенно заметным оказалось влияние на эти реакции кислотности среды. В разбавленных водных растворах кислот ($C_0 \leq 0,1$ моль/л) соединения **18** или **19** практически не образуются независимо от удельной радиоактивности N-аллилтиомочевины **17**. В то же время в реакционной смеси появляется неидентифицированный, по-видимому, полимерный продукт, содержание которого увеличивается при понижении концентрации кислоты и достигает 15–20% (при концентрации кислоты $C_0 \leq 0,05$ моль/л). Кроме того, во всех случаях обнаружено существенное возрастание (по сравнению с циклизацией немеченой N-аллилтиомочевины) содержания в реакционной смеси дигидротиазина — от 1,5 до 15–20%.

Количество аномальных продуктов циклизации в этих реакциях возрастает с увеличением: 1) удельной радиоактивности исходной тиомочевины; 2) концентрации кислоты; 3) содержания ионов галогена в рас-

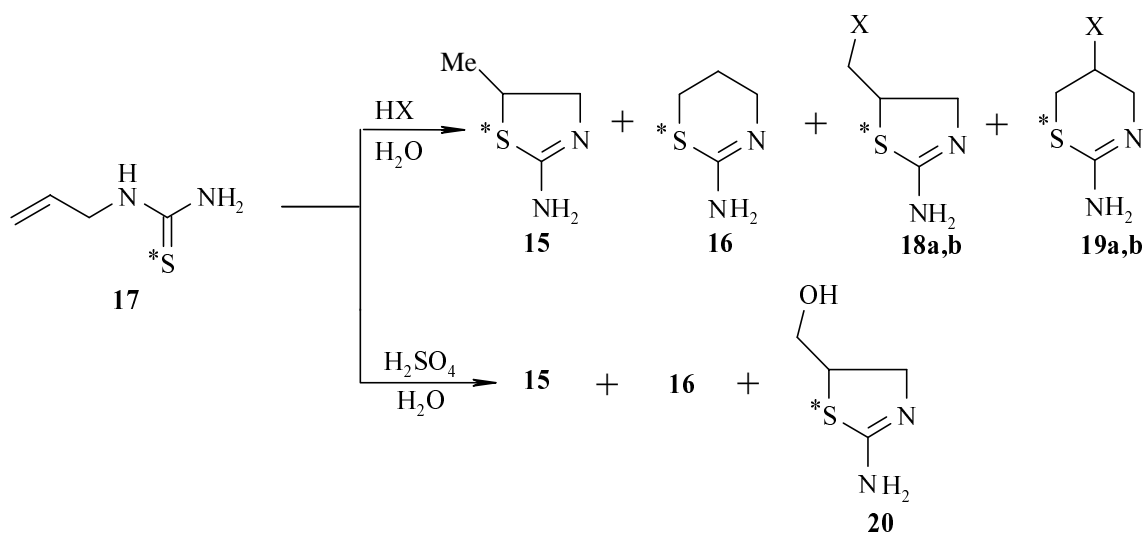
творе (табл. 1). Необходимо также отметить, что во всех случаях содержание 5-членных гетероциклов **15**, **18a,b** и **20** существенно превосходило количество их 6-членных изомеров **16**, **19a,b** (соотношение 95 : 5 соответственно). Для идентификации этих продуктов реакций были проведены их встречные синтезы и показана идентичность хроматографических констант продуктов реакций и эталонных соединений (ТСХ).

Таблица 1

Суммарный выход аномальных продуктов **18a, 19a** (или **18b, 19b**) при циклизации $[^{35}S]N$ -аллилтиомочевины **17** в водных растворах кислот

Реагент	Концентрация реагента, C_0 , моль/л	Удельная активность соединения 17 , Ки/моль	Выход 18a+19a (или 18b+19b), %
HCl	0,1	5,0	$1,5 \pm 0,7$
То же	0,5	5,0	$3,9 \pm 0,7$
—«—	1,0	5,0	$9,1 \pm 3,0$
—«—	1,0	0,5	$7,3 \pm 2,5$
HBr	0,1	5,0	$1,8 \pm 0,5$
То же	0,5	5,0	$4,8 \pm 0,8$
—«—	1,0	5,0	$10,9 \pm 1,3$
—«—	0,5	0,5	$4,2 \pm 1,6$
—«—	1,0	0,5	$8,0 \pm 2,2$
—«—	1,0	0,05	$4,7 \pm 1,9$
HBr + KBr	1,0 0,05	5,0	$11,0 \pm 1,0$
То же	1,0 0,1	5,0	$11,3 \pm 1,1$
—«—	1,0 0,5	5,0	$14,0 \pm 1,1$
HCl + NaCl	1,0 0,5	5,0	$12,3 \pm 1,4$

Условия циклизации: C_0 (**17**) = 0,1 моль/л, 100 °С, 100%-е превращение исходного соединения **17**



X = Cl (a), Br (b); *S = ^{35}S

Схема 7

Кинетические исследования сложных химических реакций органических соединений, содержащих сульфидную серу

Высокая нуклеофильность тиомочевины в сочетании с низкой основностью делают ее удобной моделью при изучении реакций нуклеофильного замещения для широкого круга галогенпроизводных.

Показано [24], что при взаимодействии тиомочевины с N-(α-галогенацил)аминокислотами реакция идет по второму порядку и ее скорость зависит от природы растворителя. Для подробного изучения влияния растворителя на скорость реакции была выбрана более простая модель — α-броммасляная кислота. Изучено взаимодействие [³⁵S]тиомочевины и α-броммасляной кислоты в различных растворителях и определены константы скорости реакции [25]. Скорость реакции зависит от растворителя и уменьшается в ряду диметилформамид, этанол, пропанол-2, уксусная кислота.

Ранее было изучено влияние вицинальных заместителей на реакционную способность в нуклеофильном замещении у насыщенного атома углерода. Радиохроматографически определены константы скорости реакции тиомочевины с β-замещенными бромэтанами в диметилформамиде, рассчитаны энергии активации реакции [26]. Показано несоблюдение изокинетической зависимости и уравнения Тафта для всех заместителей и выполнение изокинетических зависимостей для двух отдельных реакционных серий, одна из которых удовлетворительно описывается уравнением Тафта, учитывающим индуктивные и стерические эффекты заместителей.

На основании полученных данных предположили существование двух типов вицинальных заместителей в β-замещенных бромэтанах с различными механизмами влияния на реакционную способность брома у насыщенного атома углерода. Для заместителей первого типа (H, F, Br, CH₃, C₆H₅) основными факторами, определяющими реакционную способность, являются их индуктивные и стерические эффекты. Второй тип заместителей включает заряженные или сильно полярные заместители (COOH, COOC₂H₅, CN, NH₃⁺Br⁻, SC(NH₂)NH₂⁺Br⁻), что позволяет ожидать проявления эффекта поля, приводящего к дополнительной стабилизации переходного состояния.

Расщепление вицинально замещенных бромэтанов наблюдается не только в случае реакции с тиомочевинной в диметилформамиде, но и в других растворителях, таких как метанол, этанол, этилацетат, уксусная кислота, а также в случае других нуклеофильных реагентов (тиофенолят натрия, тиосульфат натрия) [27].

Высокая чувствительность метода радиохромото-

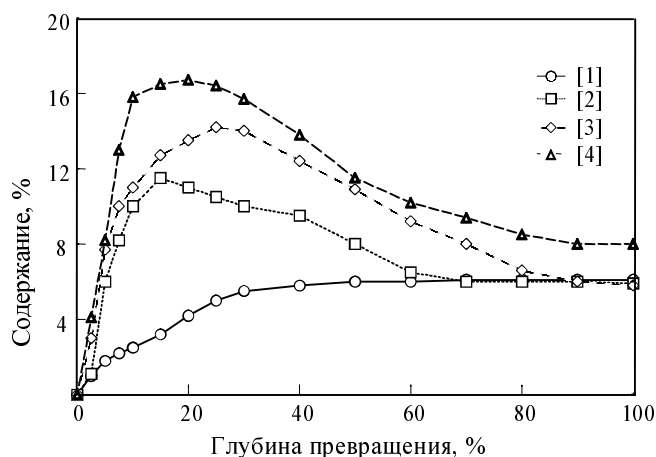


Рис. Содержание промежуточных S-бромалкилизотиомочевин Br(CH₂)_n³⁵SC(NH)NH₃⁺Br⁻ n = 2 (1), n = 3 (2), n = 4 (3), n = 5 (4) в реакционной смеси при взаимодействии тиомочевины (C₀ = 0,1 моль/л) с дибромалканами Br(CH₂)_nBr (C₀ = 0,05 моль/л) в этаноле при 100 °С

графии позволяет выявить образование промежуточных сероорганических продуктов. Так, реакция тиомочевины с α,β-дибромпропионовой кислотой идет через стадию образования α-бром-β-(изотиуронийбромид)пропионовой кислоты [28]. При проведении реакции в спиртовой среде, уксусной кислоте или без растворителя в качестве основных продуктов реакции, кроме α-бром-β-(изотиуронийбромид)пропионовой кислоты, образуются α,β-ди(изотиуронийбромид)пропиононая кислота и гидробромид 2-имино-4-оксо-5-изотиуронийметилтиазолидина. Взаимодействие дибромпропиловых эфиров с тиомочевинной также проходит через стадию образования моноизотиурониевых производных [29].

Реакция тиомочевины с N-(α-бромбутирил)глицином **21** в этаноле при нагревании идет с отщеплением аминокислоты и образованием 5-этилпсевдотиогидантоина [30]. Использование меченой ³⁵S-тиомочевины **4** позволило зафиксировать в реакционной смеси N-(α-изотиуронийбутирил)глицин **22** (первичный продукт реакции), содержание которого при всех степенях превращения **21** не превышало 2–3% (схема 8).

С целью оптимизации метода синтеза соединений, содержащих в алифатической цепи атом галогена и изотиурониевую группу изучена кинетика взаимодействия [³⁵S]-тиомочевины с α,ω-дибромалканами Br(CH₂)_nBr в спирте [18, 31]. Во всех случаях концентрации промежуточного моноизотиурониевого производного при всех степенях превращения незначительна (рис.).

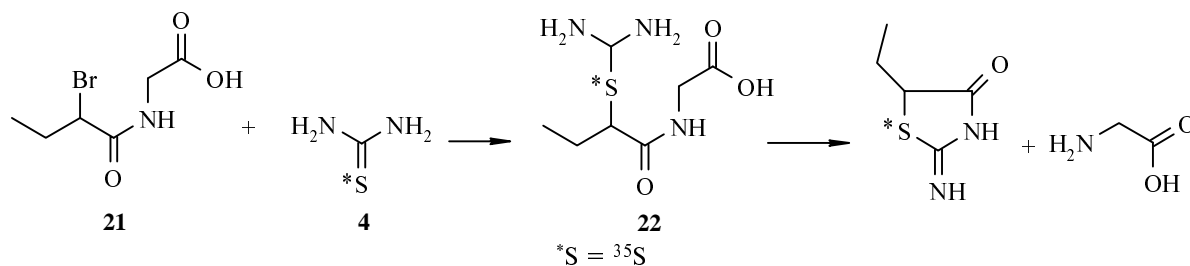


Схема 8

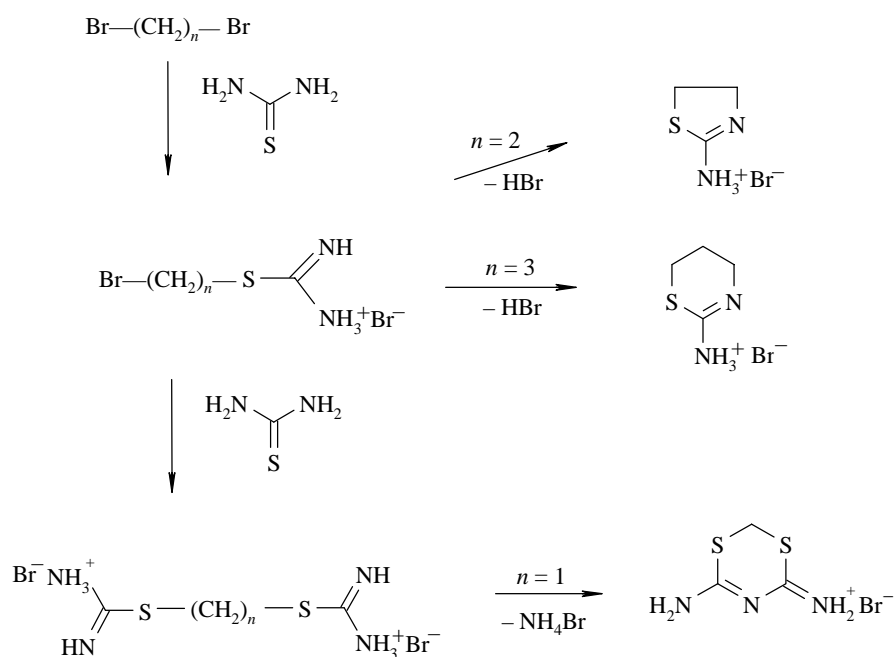


Схема 9

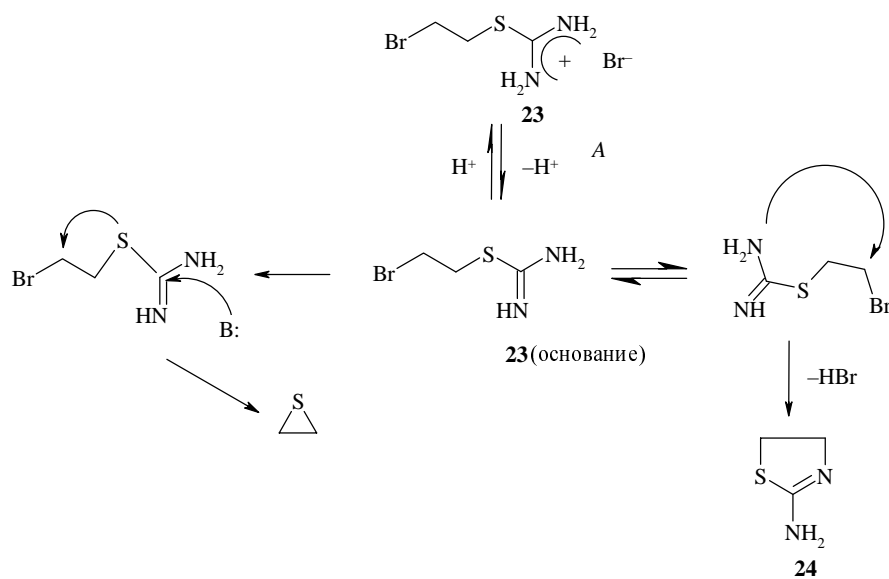


Схема 10

Бромметилтиуроний бромид — продукт замещения одного атома брома в бромистом метиле — вследствие его крайне незначительного содержания в смеси ($\leq 1,5\%$) и высокой реакционной способности выделить не удалось. Реакция осложнена образованием побочных продуктов. В случае 1,2-дибромэтана и 1,3-дибромпропана интермедиат циклизуется с образованием 2-амино-2-тиазолина и 2-амино-5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазина соответственно. В случае бромистого метилена диизотиуриониевое производное также циклизуется, лишь реакции 1,4-дибромбутана и 1,5-дибромпентана протекают гладко и приводят в конеч-

ном итоге только к диизотиуриониевым продуктам (схема 9).

Была изучена циклизация гидробромида S-2-бромэтилизоthиомочевини **23**, меченного ^{35}S или ^{14}C в различных средах [18, 31]. В муравьиной кислоте циклизация соединения **23** не идет. Добавление эквивалентного количества NaOH в водный раствор соли **23** при комнатной температуре (или при 0 °C) быстро приводит к образованию циклического продукта. Очевидно, возможность и скорость циклизации определяется равновесием A (схема 10). В растворителях, обладающих значительной основностью, скорость образования

Таблица 2

Относительные константы скорости ($k_{отн.}$) циклизации гидробромида S-бромэтилизоотиомочевины **23** ($C_0 = 0,1$ моль/л) в различных растворителях при 100 °С

Растворитель	$k_{отн.}^*$	Растворитель	$k_{отн.}^*$
Формаид	42	Метанол	0,6
ГМФТА	18	Этанол	0,45
ДМСО	11	D ₂ O	0,45
Этанол–вода (1 : 1)	1,2	<i>n</i> -Пропанол	0,4
H ₂ O	1	Ацетонитрил	0,0002

$$*k_{отн.} = k_{растворитель}/k_{H_2O}$$

2-амино-2-тиазолина **24** оказалась максимальной (табл. 2).

При изучении скорости циклизации гидробромидов S-(2-замещенных-3-аминопропил)изоотиомочевин в соответствующие 5-замещенные 2-амино-5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазины установлено, что скорости реакций описываются уравнением для односторонней реакции первого порядка и увеличиваются в ряду заместителей H < OH < Cl < Br. Скорость циклизации [³⁵S]S-(3-аминопропил)изоотиомочевины (АПТ) значительно меньше скорости циклизации [³⁵S]S-(2-аминоэтил)изоотиомочевины [32]. Введение метильных групп в молекулу АПТ в β-положение к аминогруппе или остатку изоотиомочевины увеличивает скорость циклизации очевидно за счет создания более жестко закрепленных конформаций, способствующих благоприятному расположению реакционных центров донорной аминогруппы и электрофильного центра тиурониевой группы.

С использованием ³⁵S-гуанидиноалкантиолов различного строения установлено [33], что эти соединения при нагревании в воде без доступа кислорода необратимо превращаются в производные дигидротиазина или тиазолина (схема 11).

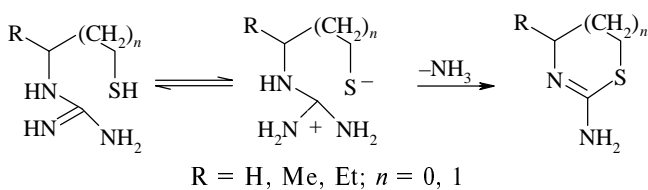
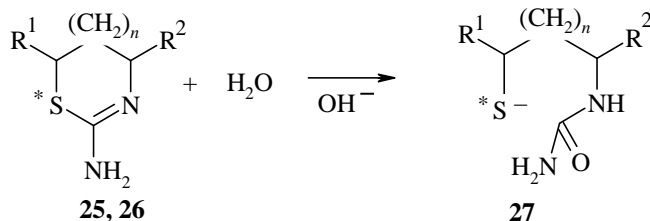


Схема 11

Скорости циклизации описываются кинетически уравнениями для односторонних реакций первого порядка. Увеличение расстояния между функциональными группами в молекуле приводит к существенному замедлению скорости реакции. Скорость реакции зависит от рН среды. Концентрация буфера, добавки D₂O и D,L-аланина практически не влияют на скорость реакции.

Исследованы превращения гетероциклов тиазолинового **25** и дигидротиазинового **26** рядов в уреидоалкантиолы **27** в щелочных водных растворах [34] (схема 12).

Эффективные константы скорости реакции рассчитывали по уравнению для односторонней реакции первого порядка. Оказалось, что шестичленные гетероциклы **26** в этих условиях менее устойчивы, чем пятичленные. На прочность связи S–C₍₂₎ тиазолинового кольца в условиях гидролиза оказывают влияние алкильные заместители. Так, наличие метильного заместителя у атома C₍₅₎ дестабилизирует соединение. В то же время алкильные заместители у атома C₍₄₎ практически не влияют на скорость гидролиза гетероцикла.

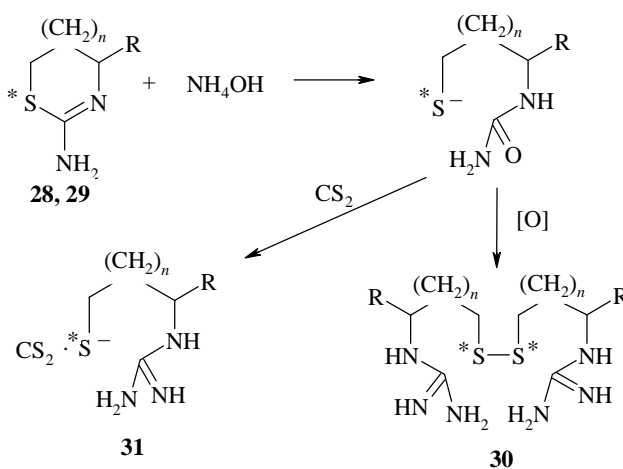


$$R^1 = H, Me, Et; R^2 = H, Me, Et; n = 0 \text{ (25)}, 1 \text{ (26)} \\ *S = {}^{35}S$$

Схема 12

Изучен сольволиз 2-амино-4-этил-2-тиазолина **28** и 2-амино-4-метил-5,6-дигидро-4*H*-1,3-тиазина **29** в водных растворах в присутствии избытка аммиака [34]. Основными продуктами реакции в этих условиях являются соответствующие 2(3)-гуанидиноалкантиолы, которые были выделены в виде дисульфидов **30**, а также гуанидиноалкантриокарбонатов **31** (схема 13).

Среди побочных продуктов реакции аммонолиза гетероциклов обнаружены в незначительных количествах соответствующие aminoalkantiols и гуанидин. Продукты щелочного гидролитического расщепления производных гетероциклов — соответствующие уреидоалкантиолы — не обнаружены. Наибольший выход 2(3)-гуанидиноалкантиолов **30** наблюдали при 2–2,5-кратном избытке гидроксида аммония.



$$R = H, Me, Et; n = 0 \text{ (28)}, 1 \text{ (29)}; *S = {}^{35}S$$

Схема 13

Пере­груп­пиров­ка цик­личес­ких изотио­моче­вин

Дигидробромид S-(2-бром-3-аминопропил)изотио­моче­вины **31** при нагревании в водном растворе цик­ли­зуется с образованием гидробромида 2-амино-5-бром-5,6-дигидро-1,3-тиазина **32** [35]. Это соедине­ние, в свою очередь, претерпевает пере­груп­пиров­ку с сужением цикла, превращаясь в гидробромид 2-амино-5-бромметил-2-тиазолина **33** и гидробромид 2-амино-5-гидроксиметил-2-тиазолина **34** [36]. Синте­зи­рованы различные соли [³⁵S]2-амино-5-бром- и [³⁵S]2-амино-5-хлор-5,6-дигидро-1,3-тиазинов и радио­хро­матографически изучена кинетика тиазин-тиа­золи­новой пере­груп­пиров­ки в зависи­мости от при­роды уходящей группы, кислотности среды и добавок нуклеофильных реагентов [37] (схема 14).

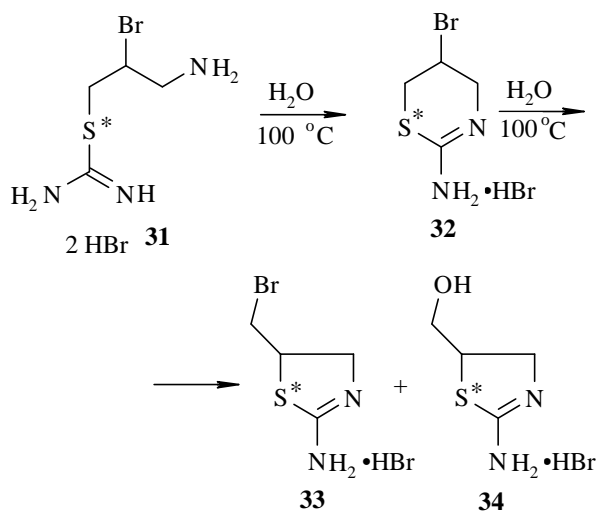


Схема 14

В апротонных полярных растворителях (ацетон, ДМФА, ДМСО) пере­груп­пиров­ка практически не наблюдается. В полярных протонных растворителях, таких как метанол, этанол, пропанол-2 пере­груп­пиров­ка также не идет. Подходящий растворитель, в котором наблюдается пере­груп­пиров­ка солей 2-амино-5-галогензамещенных-1,3-тиазинов с заметной скоростью, — это вода.

Анализ кинетических данных для пере­груп­пиров­ки солей дигидротиазинов в водных растворах показал, что скорости реакции описываются уравнением для односторонней реакции первого порядка (по дигидротиазину) и зависят от температуры и характера добавок, присутствующих в реакционной смеси [37]. Так, гидробромид 2-амино-5-бром-5,6-дигидро-1,3-тиазина **32** при повышении температуры реакционной среды с 80 до 100 °С пере­груп­пиров­ывается примерно в 5 раз быстрее, а в присутствии 1 экв. бромида аммония — в три раза медленнее. В 4 раза быстрее при пере­груп­пиров­ке реагирует гидробромид 5-бромпроизводного **32** по сравнению с гидробромидом 2-амино-5-хлор-5,6-дигидро-1,3-тиазина. Это объясняется большей легкостью гетеролиза связи С—Hal в случае, когда Hal = Br.

Экспериментами с двойной радиоактивной меткой (³⁵S и ³⁶Cl) показано [38], что в сольволитической изомеризации [³⁵S]2-амино-5-хлор-5,6-дигидро-4H-1,3-тиазина **35** в 50% водном этаноле в присутствии 10-кратного избытка хлористого натрия, меченного

хлором ³⁶Cl, наблюдается эффект «внутреннего воз­врата» анионов хлора (то есть содержание пере­груп­пированного и меченного только серой ³⁵S 2-амино-5-хлорметил-2-тиазолина в реакционной смеси существенно превосходит количество этого же, но дважды меченного гетероцикла) (схема 15).

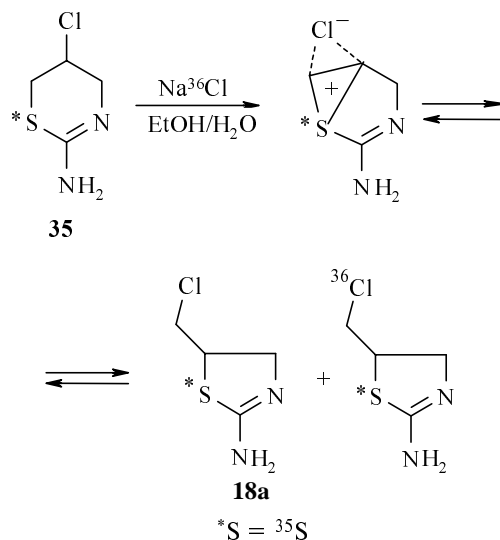


Схема 15

Полученные экспериментальные данные позволили сделать выводы относительно механизма дигидротиазин-тиа­золи­новой пере­груп­пиров­ки.

Пере­груп­пиров­ка шестичленного цикла в пяти­членный происходит с участием атома серы, причем скорость реакции существенно зависит от степени депротонирования амидиновой группировки гетероцикла, в рас­срeдоточении положительного заряда в которой также должен участвовать атом серы. Атака атома серы на реакционный центр происходит по внутримолекулярному S_N2-механизму с образованием контактной ионной пары. Это позволяет объяснить значительную степень возврата анионов хлора в исходный тиазин. По-видимому, ионизация связи С—Hal протекает с синхронным взаимодействием 3p-электронов атома серы с возникающим положительным зарядом на атоме углерода. Такое взаимодействие приводит к сульфониевой структуре, которая атакуется нуклеофилами, присутствующими в реакционной смеси.

При изучении сольволиза гидробромида 2-амино-5-бромметил-2-тиазолина **33**, меченного ³⁵S, в воде и 50%-м водном этаноле при 100 °С удалось обнаружить в реакционной смеси продукт пере­груп­пиров­ки с расширением цикла — соответствующий 5-бромдигидротиазин (максимальное содержание 10—12%) [39], что свидетельствует об обратимости данной пере­груп­пиров­ки.

Пере­груп­пиров­ка цик­личес­ких дитиокарбаматов

При исследовании реакции сероуглерода с основаниями 2,3-дигалогенпропиламинов **36** в эфире было обнаружено, что в ходе этой реакции образуется смесь изомерных циклических дитиокарбаматов: 5-галоген-3,4,5,6-тетрагидро-1,3-тиазин-2-тионов **37** и 5-галогенметилтиазолидин-2-тионов **38** [40] (схема 16). Ско-

рость реакции существенно зависит от природы галогена в исходном соединении **36**.

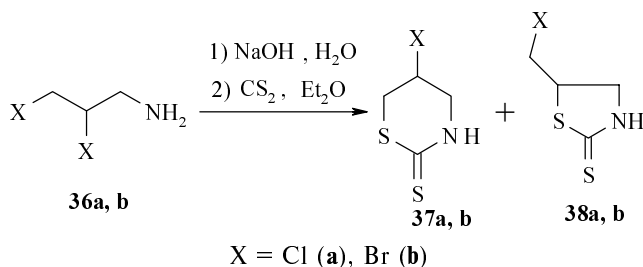


Схема 16

При изучении свойств полученных соединений было установлено, что 5-галогентетрагидротиазины **37** при нагревании в спиртах (метанол, этанол, пропанол-2) перегруппировываются в изомерные тиазолидины, при этом изомеризация 5-бромзамещенных **37b** протекает намного быстрее, чем 5-хлорзамещенных **37a** (схема 17).

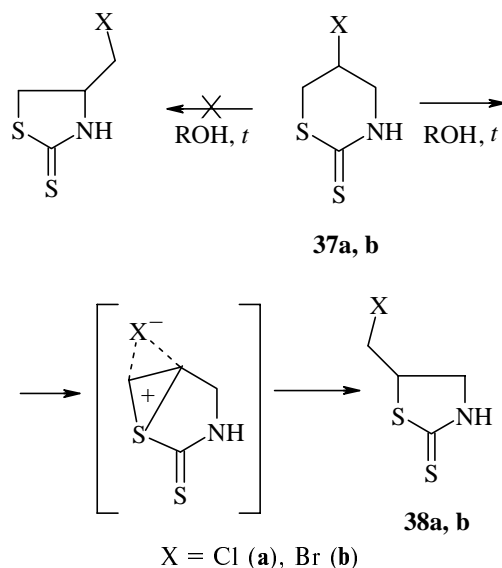


Схема 17

Подобная перегруппировка не наблюдается при замене галогена в исходном тиазине на водород. Исключительное образование 5-галогенметилтиазаolidин-2-тионов и отсутствие среди продуктов перегруппировки 4-галогенметилпроизводных свидетельствует

о взаимодействии реакционного центра только с находящимся в β-положении атомом серы. Таким образом движущая сила реакции связана с участием атома серы, которое приводит к образованию промежуточной бициклической эписульфониевой структуры.

Для более детального выяснения особенностей нуклеофильного участия атома серы в рассматриваемой системе была исследована кинетика тетрагидротиазин-тиазолидиновой перегруппировки с помощью метода радионуклидной диагностики. Для этого были получены 5-галоген-3,4,5,6-тетрагидро-1,3-тиазин-2-тионы и 5-галогенметилтиазаolidин-2-тионы, меченные ³⁵S из дигалогенпропиламинов и [³⁵S]сероуглерода по методикам, разработанным для нерадиоактивных соединений.

Изучена зависимость скорости перегруппировки от растворителя, температуры и исходной концентрации реагента. Анализ кинетических данных показал, что скорость реакции достаточно хорошо описывается уравнением первого порядка для односторонних реакций (табл. 3). На это указывает и независимость константы скорости перегруппировки от исходной концентрации реагента на примере 5-бромтетрагидро-1,3-тиазин-2-тиона **37b** (табл. 4).

Таблица 4

Константы скорости перегруппировки (*k*) соединения **37b** в этаноле при 80 °C и разных исходных концентрациях реагента

$C_0 \cdot 10^3$, моль/л	$k \cdot 10^6$, с ⁻¹
1,76	78,1 ± 4,6
0,88	75,6 ± 6,1
0,44	76,2 ± 7,3

Как видно из приведенных данных, скорость перегруппировки 5-галогентетрагидро-1,3-тиазин-2-тионов **37a, b** зависит от полярности растворителя, температуры, а также от природы галогена в исходном соединении. Такая зависимость может быть объяснена не только большей легкостью ионизации связи углерод-галоген в случае связи C—Br, чем в случае C—Cl, но еще и тем, что движущей силой перегруппировки тиазин-2-тионов **37a, b**, вероятно, является эффект участия соседнего атома серы. Такое участие атома серы возможно, если атом галогена находится в экваториальном положении относительно плоскости кольца тиазина. Положение конформационного равновесия кресло—кресло для этих соединений было определено на основании спектра ЯМР ¹H методом усреднения ширины сигнала ($w = \sum J_{\text{HН}}$) протона Н_х. Содержание экваториального конформера в 5-хлортетрагидро-1,3-тиазин-2-тионе было оценено в 30%, а в 5-бромтетрагидро-1,3-тиазин-2-тионе в 40% [41].

Таблица 3

Константы (*k*) скорости перегруппировки 5-галогентетрагидро-1,3-тиазин-2-тионов ($C_0 = 0,001$ моль/л), протекающей в различных условиях

Соединение	Растворитель	$k \cdot 10^6$, с ⁻¹			
		60 °C	65 °C	70 °C	80 °C
37a	Этанол	0,42 ± 0,05	0,63 ± 0,05	0,98 ± 0,08	2,13 ± 0,15
37a	Метанол	0,53 ± 0,06	0,82 ± 0,07	—	—
37b	Этанол	13,2 ± 0,8	20,3 ± 1,6	29,7 ± 2,4	77,2 ± 6,3
37b	Метанол	15,3 ± 1,4	24,1 ± 2,2	—	—

Перегруппировка 5-бромтиазин-2-тиона **37b**, меченного ³⁵S, в присутствии десятикратного избытка NaCl, меченного ³⁶Cl, при нагревании в этаноле, не привела к изменению скорости реакции. Появления атомов ³⁶Cl у атома C₍₅₎ 5-бромтетрагидро-1,3-тиазин-

2-тиона и у атома C₍₆₎ образующегося при этом 5-бромметилтиазолидин-2-тиона обнаружено не было. Вероятно, раскрытие эписульфониевого цикла нуклеофилами в данной реакции не осуществляется межмолекулярно.

Следует отметить, что рассматриваемая перегруппировка не сопровождается образованием продуктов сольволиза. Это свидетельствует о невысокой полярности бициклического катионоидного интермедиата, по-видимому представляющего собой тесную ионную пару. Скорее всего, перегруппировка протекает согласовано через переходное состояние без полного разделения зарядов на каком-либо из атомов, и медленная стадия образования интермедиата является лимитирующей.

Введение заместителя с положительным индуктивным эффектом к атому C₍₃₎ тиазинового цикла должно способствовать более быстрому образованию эписульфониевого иона за счет делокализации положительного заряда и привести к увеличению скорости перегруппировки. Для подтверждения этого предположения из гидробромида N-метил-2,3-дибромпропиламина **39** были синтезированы 5-бром-3-метил-3,4,5,6-тетрагидро-1,3-тиазин-2-тион **40** и 5-бромметил-3-метилтиазолидин-2-тион **41** (схема 18).

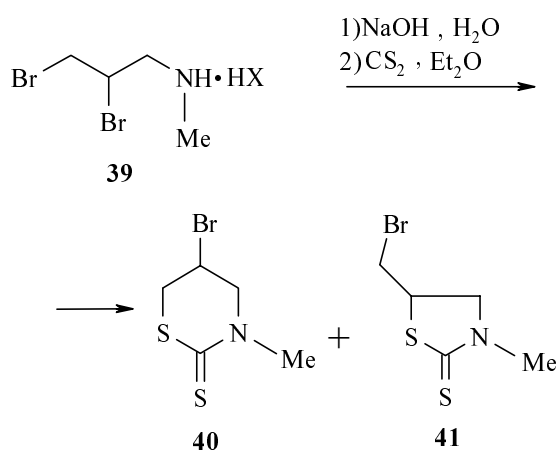


Схема 18

Установлено, что 3-метилтиазинтион **40** претерпевает перегруппировку при нагревании в спиртах (метаноле, этаноле) в изомерный тиазолидин с большей скоростью, чем незамещенный 5-бромтетрагидро-1,3-тиазин-2-тион **37b** (табл. 5).

Таблица 5

Константы (*k*) скорости перегруппировки замещенных 5-бромтиазинов, протекающей в различных условиях

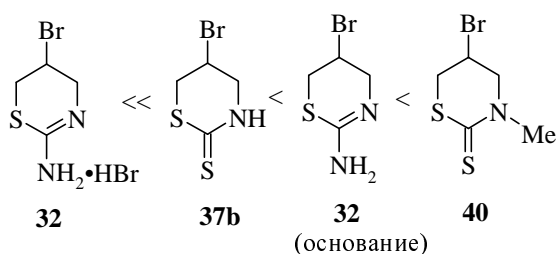
Соединение	Условия реакции		<i>k</i> · 10 ⁶ , с ⁻¹
	Растворитель	Температура, °С	
32	Вода	80	66,7 ± 2,8 ^a
37b	Этанол	80	77,2 ± 6,3
32(основание)	Этанол	50	119,4 ± 8,3
40	Этанол	50	283,3 ± 22,3

^a Перегруппировка в спирте не проходит

Из данных спектра ЯМР ¹H 5-бром-3-метил-3,4,5,6-тетрагидро-1,3-тиазин-2-тиона **40** методом усредненной ширины сигнала ($w = \sum J_{\text{HH}}$) протона Н_x определено наличие 60% экваториального конформера в смеси. Следовательно, в данной структуре преобладает конформация, способствующая образованию эписульфониевого иона. Таким образом, введение алкильного заместителя оказало существенное влияние на соотношение конформеров.

Полученные экспериментальные константы скорости перегруппировки 5-бром-3,4,5,6-тетрагидро-1,3-тиазин-2-тиона **37b** и 5-бром-3-метил-3,4,5,6-тетрагидро-1,3-тиазин-2-тиона **40** сопоставлены с описанными ранее [36] данными для основания 2-амино-5-бром-5,6-дигидро-4H-1,3-тиазина **32** и гидробромида 2-амино-5-бромдигидро-1,3-тиазина **32**, полученными в сходных условиях за исключением соли тиазина, и имеющими относительно близкие по своим значениям константы (табл. 5).

На основании данных, представленных в таблице 5, тиазины можно расположить в следующий ряд:



Результаты этих исследований хорошо согласуются с электронными эффектами гетероатомов и заместителей гетероциклов.

Изучение данной реакции с использованием соединений, меченных ³⁵S, позволили сделать следующие выводы: в полярных протонных растворителях перегруппировка проходит по механизму, сходному с перегруппировкой 5-галоген-2-аминотиазинов — через образование эписульфониевого иона. Скорость перегруппировки зависит от строения тиазина, температуры реакции, полярности растворителя, и, вероятно, от преобладающей конформации, в которой существуют исходные тиазиновые циклы.

Использование радионуклида серы ³⁵S в физической химии и для биохимических исследований

Существуют и другие направления использования органических соединений, меченных ³⁵S.

Для изучения активности катализаторов также применяют радиоизотопные методы [42]. Катализаторы на основе молибдена, используемые для дегидросульфирования, одни из наиболее важных среди промышленных катализаторов. Новый подход для изучения структуры таких катализаторов и влияния серы на действие катализатора связан с использованием изотопа ³⁵S. Исследование поведения серы в реакциях дегидросульфирования и обмена с сульфированными катализаторами Mo/Al₂O₃ и Co-Mo/Al₂O₃ позволяет выяснить в условиях реакций процесс образования активных центров и влияние различных добавок на каталитическую активность [43]. Так, например, изучена реакция дегидросульфирования дибензотиофена,

меченного ^{35}S , с помощью серии $\text{Mo}/\text{Al}_2\text{O}_3$ катализаторов, содержащих 6–20% молибдена, при температуре 280–380 °С [44]. Установлено, что механизм дегидросульфирования и природа активных центров не зависит от количества молибдена. В то же время применение Co в качестве активатора $\text{Mo}/\text{Al}_2\text{O}_3$ катализаторов для данной реакции при 200–400 °С приводит к увеличению каталитической активности, что может быть объяснено образованием большего количества активных центров [45]. Оказалось, что количество аккумулированной серы для всех катализаторов увеличивается с ростом температуры; при 400 °С атомы Co и Mo присутствуют как Co_9S_8 и MoS_2 [46]. Для той же реакции были применены катализаторы $\text{Ru}_3(\text{CO})_{12}\text{-3CsOH}/\text{Al}_2\text{O}_3$ (содержание Ru 0–20%) [47]. Наилучшие результаты получены для катализатора с 16%-м содержанием Ru . Применение катализаторов на основе благородных металлов [48], например $\text{Pt}/\text{Al}_2\text{O}_3$ дало те же результаты, что и в случае обычных Co-Mo катализаторов. Однако платиновый катализатор почти не содержит серы, что свидетельствует о разных механизмах действия катализаторов.

Следует отметить вновь возросший в последние годы интерес к использованию соединений, меченных ^{35}S , в биохимии [49]. Получение соединений с фиксированной локализацией метки, характеризующихся высокой степенью чистоты, высокими и сверхвысокими удельными активностями позволило использовать эти соединения для исследований как фундаментального, так и прикладного характера. В биосинтезе глутатиона, природного трипептида, применен сульфат натрия, меченный ^{35}S , с высокой удельной радиоактивностью (> 1200 Ки/ммоль). Это позволило получить [^{35}S]глутатион с удельной активностью > 1000 Ки/ммоль [11]. Хемоферментным способом с использованием серной кислоты с удельной активностью > 1200 Ки/ммоль синтезирован [^{35}S]метионин с такой же высокой удельной активностью [50].

В 1996 г. впервые был получен 5'-дитиофосфорил-олигонуклеотид, меченный ^{35}S . Изучение его свойств показало, что он устойчив к действию щелочной фосфатазы и не является субстратом для Т4 полинуклеотидкиназы [51].

Применение ^{35}S позволило установить все стадии биосинтеза биотина, входящего в состав активного центра ферментов, катализирующих карбоксилирование пируват-карбоксилазы и ацетил-КоА-карбоксилазы [10].

Полученный с высокой удельной радиоактивностью эффективный непептидный антагонист рецептора окситоцина [^{35}S](1-(1-(2-(2.2.2-трифторэтокси)-4-(1-метил-сульфонил-4-оксипиперидинил)фенилацетил)-4-пиперидинил)-3,4-дигидро-2(1H)-хинолинон) был использован для изучения фармакологии рецептора окситоцина тканей человека [52]. Меченные ^{35}S соединения использовались для изучения взаимодействия метаболитов и рецепторов [53], устойчивости моносахаридных производных L-цистеина в присутствии гепатотоксина (ацетаминофена) [54], для исследования механизма действия нерибосомной пептидсинтазы [55], как радиобиоганды в нейробиологии и нейрорфармакологии [56–59].

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований (проекты: № 05-04-48794, № 05-03-08140-офи-а).

ЛИТЕРАТУРА

1. *Chechev V.P., Egorov A.G.* Applied Radiation and Isotopes, 2000, v. 52, p. 601–608.
2. Химия органических соединений серы. Общие вопросы. Под ред. Л.И. Беленького. М.: Химия, 1988, 319 с.
3. *Tarver H., Schmidt C.L.A.* J. Biol. Chem., 1939, v. 130, p. 67–80.
4. *Tarver H., Schmidt C.L.A.* Ibid., 1942, v. 146, p. 69–84.
5. *Doerge D.R.* J. Labell. Compounds and Radiopharm., 1989, v. 25, № 9, p. 985–990.
6. *Slama J.T., Simmons A.M., Hernandez T.M., Keenan R.W.* Anal. Biochem., 1993, v. 209, № 1, p. 143–149.
7. *Ткаченко С.Е., Трофимова Т.П., Федосеев В.М.* Химия гетероцикл. соедин., 1999, т. 34, № 8, с. 1107–1111.
8. *Миклухин Г.П.* Изотопы в органической химии. Киев: АН УССР, 1961, 731 с.
9. *Asselin J., Phaneuf S., Watterson D., Haiech J.* Anal. Biochem., 1989, v. 178, № 1, p. 141–147.
10. *Marquet A., Frappier F., Guillerme G. e. a.* J. Am. Chem. Soc., 1993, v. 115, № 6, p. 2139–2145.
11. *Jayachandran N., Asokan K.P., Unny V.K.P.* J. Labell. Compounds and Radiopharm., 2000, v. 43, p. 971–975.
12. *Филатов Э.С., Симонов Е.Ф.* Физико-химические и ядерно-химические способы получения меченых соединений и их идентификация. М.: Энергоиздат, 1987, 142 с.
13. *Ramires F. de M., Jimenez-Reyes M., Bulbulian S.* J. Radioanal. and Nucl. Chem., 1999, v. 241, № 1, p. 225–226.
14. *Squires R.F., Casida J.E., Saederup E.* Mol. Pharmacol., 1983, № 23, p. 326–336.
15. *Korpi E.R., Lüddens H.* Ibid., 1993, № 44, p. 87–92.
16. *Korpi E.R., Lüddens H., Seeburg P.H.* Eur. J. Pharmacol., 1992, v. 211, p. 427–428.
17. *Ткаченко С.Е., Толстой Д.Д., Чурилин В.С., Федосеев В.М.* Ж. орган. химии, 1982, т. 18, № 7, с. 1551–1553.
18. *Ткаченко С.Е.* Дисс. ...канд. хим. наук. М., 1998, 120 с.
19. *Ткаченко С.Е., Карпов Н.А., Федосеев В.М.* Радиохимия, 2000, т. 42, № 3, с. 193–209.
20. *Федосеев В.М., Мандругин А.А., Семенов М.Н.* Химия гетероцикл. соедин., 1984, № 1, с. 44–47.
21. *Федосеев В.М., Чурилин В.С., Малько В.И. и др.* Докл. АН СССР, 1974, т. 218, с. 1381–1384.
22. *Федосеев В.М., Голубев А.А., Мандругин А.А. и др.* Органические соединения, меченные радиоактивными изотопами. В 2 ч. Ч.1. М.: ЦНИИ Атоминформ, 1982, с. 65–75.
23. *Ткаченко С.Е., Трофимова Т.П., Карпов Н.А., Федосеев В.М.* Радиохимия, 1997, т. 40, № 2, с. 146–149.
24. *Василевский В.Л., Федосеев В.М., Силаев А.Б.* Ж. общей химии, 1962, т. 32, с. 2269–2273.
25. *Василевский В.Л., Свердлов Е.Д., Федосеев В.М., Силаев А.Б.* Там же, 1963, т. 33, с. 2397–2401.
26. *Рязанцев Г.Б., Лыс Я.И., Федосеев В.М.* Ж. орган. химии, 1991, т. 27, вып. 5, с. 900–904.
27. *Рязанцев Г.Б., Сухов Л.Л., Лыс Я.И., Федосеев В.М.* Вестн. МГУ, Сер. 2. Химия, 1994, т. 35, № 6, с. 502–511.

28. Федосеев В.М., Завада М., Силаев А.Б. Ж. общей химии, 1962, т. 32, с. 3425—3432.
29. Федосеев В.М., Сулима А. В., Силаев А.Б. Там же, 1962, т. 32, с. 3432—3439.
30. Силаев А.Б., Федосеев В.М., Василевский В.Л. Там же, 1960, т. 30, с. 3464—3468.
31. Ткаченко С.Е., Сальников Д.И., Лыс Я.И. и др. Ж. орган. химии, 1983, т. 19, № 5, с. 988—995.
32. Мандругин А.А., Федосеев В.М. Там же, 1976, т. 12, № 5, с. 1018—1021.
33. Мандругин А.А., Федосеев В.М., Хомутов С.М. и др. Химия гетероцикл. соедин., 1987, № 11, с. 1572—1575.
34. Мандругин А.А., Федосеев В.М., Семенов М.Н., Хомутов С.М. Там же, 2000, № 11, с. 1550—1556.
35. Федосеев В.М., Филиппович И.В. Ж. общей химии, 1964, т. 34, с. 1556—1561.
36. Федосеев В.М., Чурилин В.С., Лыс Я.И. Вестн. МГУ. Сер. 2. Химия, 1971, № 5, с. 611—614.
37. Федосеев В.М., Чурилин В.С., Ткаченко С.Е. Докл. АН СССР, 1971, т. 197, с. 1351—1352.
38. Федосеев В.М., Чурилин В.С., Ткаченко С.Е. и др. Там же, 1977, т. 235, с. 1327—1330.
39. Федосеев В.М., Чурилин В.С., Ткаченко С.Е., Камаев А.В. Химия гетероцикл. соедин., 1978, № 7, с. 997—999.
40. Трофимова Т.П., Федосеев В.М., Ткаченко С.Е. Там же, 2002, № 12, с. 1733—1734.
41. Самошин В.В., Пушин А.Н., Трофимова Т.П. и др. Ж. орган. химии, 1987, т.23, вып. 4, с. 900—901.
42. Godo M., Ishihara A., Kabe T. Energy & Fuels., 1997, № 11, p.724—729.
43. Kabe T., Qian W., Ishihara A. Catalysis Today, 1997, v. 39, p. 3—12.
44. Qian W., Zhang Q., Okoshi Y. e. a. J. Chem. Soc. Faraday Trans., 1997, v. 93, № 9, p. 1821—1826.
45. Kabe T., Ishihara A., Qian W., Godo M. Catalysis Today, 1998, v. 45, p. 285—291.
46. Qian W., Ishihara A., Aoyama Y., Kabe T. Applied Catalysis A: General., 2000, v. 196, № 1, p. 103—110.
47. Ishihara A., Godo H., Kanamori R. e. a. Ibid., 1999, v. 182, № 1, p. 345—355.
48. Qian W., Yoda Y., Hirai Y. e. a. Ibid., 1999, v. 184, № 1, p. 81—88.
49. Бланко М.А. Меченые атомы в биохимии. Под ред. А.Н. Шамина. М.: Наука, 1988, 120 с.
50. Boullais C., Riva M., Noel J.-P. J. Labell. Compounds and Radiopharm., 1997, v. 39, № 7, p. 621—624.
51. Seeberger P.H., Jorgensen P.N., Bankaitis-Davis D.M. e. a. J. Am. Chem. Soc., 1996, v. 118, № 40, p. 9562—9566.
52. Lemaire W., O'Brien J.A., Burno M. e. a. Eur. J. Pharmacol., 2002, v. 450, p. 19—28.
53. Kwiatkowski S., Crocer P.J., Chavan A.J. e. a. Tetrahedron Lett., 1990, v. 31, № 15, p. 2093—2096.
54. Roberts J.C., Phaneuf H.L., Dominick P.K. e. a. J. Labell. Compounds and Radiopharm., 1999, v. 42, p. 485—495.
55. Gehring A.M., Mory I., Perry R.D. Walsh C.T. Biochemistry, 1998, v. 37, p. 11637—11650.
56. Canney D.J., Holland K.D., Levine J.A. e. a. J. Med. Chem., 1991, v. 34, № 4, p. 1460—1467.
57. Dean D.C., Nargund R.P., Pong S.-S. e. a. Ibid., 1996, v. 39, № 9, p. 1767—1770.
58. Korpi E.R., Seeburg P.H., Lüddens H. J. Neurochem., 1996, v. 66, p. 2179—2187.
59. Rabe H., Picard R., Uusi-Oukari M. e. a. Eur. J. Pharmacol., 2000, v. 409, p. 233—242.