

УДК 541.123.52 : 541.128 : 546.11.03 : 547.9

ВВЕДЕНИЕ ТРИТИЯ В БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫЕ СОЕДИНЕНИЯ С ПОМОЩЬЮ ОБМЕННЫХ МЕТОДОВ

Л. А. Нейман

Различные варианты гомогенного и гетерогенного катализитического изотопного обмена, а также катализитическое замещение галогена на тритий рассмотрены с точки зрения их использования для введения тритиевой метки в соединения, представляющие биологический интерес (аминоокислоты, пептиды, белки, нуклеотиды, углеводы, стероиды, лекарственные средства и др.).
Библиография — 214 ссылок.

ОГЛАВЛЕНИЕ

I. Введение	196
II. Обмен лабильных атомов водорода	197
III. Гомогенный катализ изотопного обмена водорода	198
IV. Гетерогенный катализ изотопного обмена водорода	206
V. Катализитическое дегалогенирование	214

I. ВВЕДЕНИЕ

Биология и смежные дисциплины — биохимия, молекулярная биология, биоорганическая химия — являются теми областями, где применение изотопного метода оказалось наиболее плодотворным. Сегодня развитие целого ряда разделов этих наук нельзя представить себе без использования радиоактивных изотопов, а некоторые разделы (например, изучение метаболизма или биогенеза) только благодаря изотопному методу были поставлены на подлинно научную основу. В настоящее время в биохимии и биоорганической химии изотопный метод получил наибольшее распространение как метод качественного и количественного анализа веществ. Это объясняется тем, что изотопный метод на 4—6 порядков чувствительнее спектральных методов, и кроме того в большинстве случаев не требует тщательной очистки определяемых веществ. Нередко исключается даже необходимость их выделения или разрушения пробы, в которой они содержатся. Для биологических дисциплин высокая чувствительность изотопного метода особенно важна потому, что дает возможность надежно определять вещества при концентрациях, близких к тем, при которых проявляется их биологическая активность.

Поскольку чувствительность метода однозначно связана с величиной удельной радиоактивности (a) меченого соединения, в последние годы четко обозначилась тенденция применять тритийсодержащие органические соединения вместо их аналогов, меченых ^{14}C . Действительно, теоретически при введении в молекулу одного атома T достигается $a \sim 30$ кюри/ммоль, тогда как введение одного атома ^{14}C дает только 64 мкюри/ммоль. Так как молекулы органических соединений содержат во многих случаях десятки атомов водорода, в принципе возможно получать тритированные соединения с a в несколько сот и более кюри/ммоль. Однако на практике редко используют препараты с $a > 50$ —100 кюри/ммоль, потому что при больших значениях сильно ускоряется автора-

диолиз. Другими преимуществами трития являются возможность введения его обменными методами (т. е. в «готовую» молекулу) и значительно меньшая стоимость тритийсодержащих соединений по сравнению с соединениями меченными ^{14}C . Что касается других применяемых радиоактивных изотопов — ^{32}P , ^{33}P , ^{35}S , ^{125}I и др., то сфера их использования, разумеется, значительно уже.

Таким образом, тритий является в настоящее время наиболее важным и распространенным радиоактивным изотопом, применяемым в биологии и смежных дисциплинах, и вопрос о методах получения меченых тритием биологически активных веществ (БАВ) * приобретает весьма актуальное значение. К этим методам относится химический синтез, биосинтез, синтез с помощью горячих атомов и обменные методы (катализитический изотопный обмен, метод Вильцбаха и его модификации и др.), причем обменные методы, в особенности при получении меченых БАВ сложного строения, имеют ряд преимуществ — это прежде всего одностадийность («экспрессность»), универсальность, сравнительная простота и возможность достижения высоких значений α .

Данный обзор посвящен обменным методом получения тритийсодержащих БАВ; подробно рассмотрены обмен лабильных атомов водорода, гомогенный и гетерогенный катализ водородно-тритиевого обмена. Кроме того, в обзор включен метод катализитического дегалогенирования, который, строго говоря, является одним из синтетических методов. Это обусловлено, во-первых, его близостью (как с точки зрения механизма, так и с чисто препаративной стороны) к гетерогенному катализу изотопного обмена, а во-вторых, чрезвычайно важным значением, которое этот метод приобрел (особенно за последние годы) для получения практически всех классов меченых БАВ, прежде всего пептидов, белков и нуклеотидов. Метод Вильцбаха и его модификации в настоящем обзоре не рассматриваются. Особое внимание обращено на работы, появившиеся за последние 10 лет; сводку более ранней литературы можно найти в монографии Эванса, изданной в русском переводе¹ в 1970 г. Работы по дейтерию приводятся лишь в тех случаях, когда представляет интерес их сравнение с соответствующими результатами для трития, или когда таких результатов для Т вообще нет, но они (судя по работам с D) могли бы быть получены.

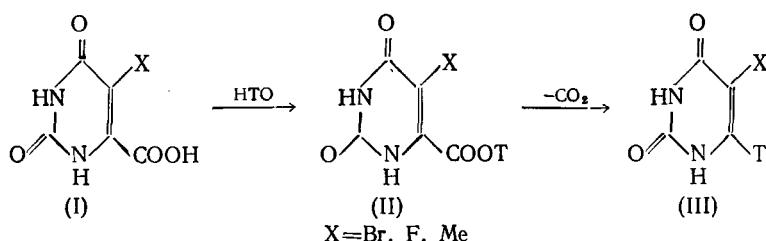
II. ОБМЕН ЛАБИЛЬНЫХ АТОМОВ ВОДОРОДА

Как известно, при растворении в протонных тритийсодержащих растворителях (HTO, MeOT, EtOT, AcOT и др.) соединения, содержащие группы >NH , $-\text{OH}$, $-\text{SH}$, уже при обычных условиях быстро обменивают атомы H этих групп (лабильные атомы водорода) на T. Если растворенное вещество способно к тautомерным превращениям (например, кето-енольная или имино-енаминная тautомерия), то атомы H, связанные с атомами C, также могут обмениваться с тритийсодержащим растворителем в условиях (часто достаточно мягких), при которых устанавливается тautомерное равновесие (т. е. стабильный атом H становится лабильным).

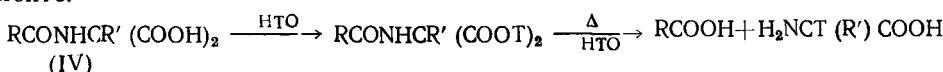
Введение трития в лабильное положение протекает легко и обратимо, в связи с этим реакция, как правило, не имеет препаративного зна-

* Под биологически активными веществами (БАВ) в настоящем обзоре понимаются как соединения природного происхождения (белки, пептиды, аминокислоты, углеводы, нуклеотиды, стероиды и пр.), так и синтетические препараты (лекарственные средства, пестициды, канцерогены и др.).

чения, так как полученные этим методом меченные БАВ полностью теряют тритий при растворении в обычных растворителях или при использовании в биологических исследованиях. Однако в некоторых случаях тритий удается достаточно просто перевести из лабильного в стабильное положение. Прекрасным примером служит получение 5-фторурацила-(6-T)²⁻⁵ и 5-бромурацила-(6-T)⁶ из соответствующих оротовых кислот (I), легко обменивающих карбоксильный водород при нагревании с НТО или (более предпочтительный метод)^{4,5} с раствором T₂O в диоксане или ДМФА (100°, 1 час). Такие растворы получают в результате пропускания T₂ через суспензию PtO₂ в диоксане или ДМФА. Меченные оротовые кислоты (II) затем декарбоксилируются при 250—300° с образованием соответствующих меченных нуклеиновых оснований (III), имеющих *a* ~ 1—2 кюри/ммоль. Аналогично, как показано⁷, может быть получен тимин-(6-T).



Этот же принципложен в основу метода специфического введения D или T в α -положение молекул α -аминокислот (аланин, фенилаланин, глутаминовая и аспарагиновая кислоты)⁸. Метод включает изотопный обмен карбоксильного водорода соответствующих N-ациламиномалоновых кислот (IV) с D₂O или НТО и последующие омыление и декарбоксилирование. Все три стадии могут быть проведены в одном эксперименте.

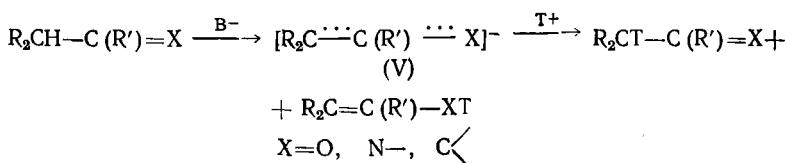


III. ГОМОГЕННЫЙ КАТАЛИЗ ИЗОТОПНОГО ОБМЕНА

Для введения трития в БАВ использовались как основный и кислотный катализ, так и катализ в присутствии растворимых солей переходных металлов.

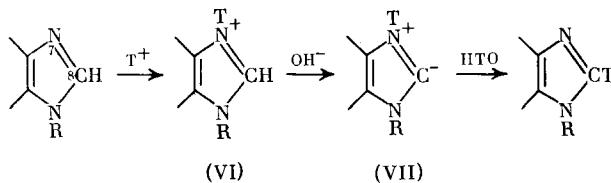
1. Основный катализ

При основном катализе процесс изотопного обмена инициируется атакой анионом B⁻, отрывающим протон от обменивающегося соединения с образованием карбаниона, который затем присоединяет T⁺. Если промежуточный карбанион является амбидентным (например, (V)), т. е. способен протонироваться по двум (или более) центрам, условия изотопного обмена совпадают с условиями таутомерных превращений, и последние часто идентифицируются по протеканию изотопного обмена.

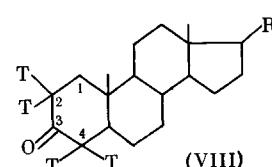


В некоторых случаях депротонирование протекает очень легко. Так, пуриновые основания, нуклеозиды и нуклеотиды (хотя и медленно), но обменивают водород у С (8) уже при pH 8 и комнатной температуре^{9, 10}. При preparativном получении меченых пуринов проводят нагревание с НТО при 85—100°; продолжительность процесса колеблется от 20 мин (в случае ДНК и нуклеозидтрифосфатов, подвергающихся в этих условиях частичному гидролизу) до нескольких часов^{11—13}. Скорость обмена определяется как электронными, так и пространственными факторами. Наличие рибофуранозильного остатка облегчает обмен: при 85° аденоzin обменивается по С (8) вдвое быстрее аденина, который, однако, обменивает водород при С (2) в 2000 раз быстрее, чем при С (8)¹⁴.

Существенное влияние оказывают конформация макромолекулы и микроструктура спирали, определяющие доступность для молекулы воды того или иного участка молекулы нуклеиновой кислоты^{15—18}: обмен Н у С (8) с НТО в пуриновых остатках природной двусpirальной ДНК происходит почти в три раза медленнее, чем для смеси соответствующих полинуклеотидов; еще медленнее (в 30—40 раз) обменивается двусpirальная РНК. Как показали исследования кинетики обмена при различных значениях pH^{19—22}, в действительности депротонируется не сама пуриновая молекула, а ее N(7)-протонированная форма (VI). Последняя образуется очень быстро, тогда как ее превращение в илид (VII) является лимитирующей стадией всего процесса:



Метиленовые группы, активированные соседними электроноакцепторными группировками ($\text{>} \text{CO}$, —COOR, —CN и т. д.), обмениваются с НТО при щелочных значениях pH обычно при нагревании. Для кетонов, например для камфоры²³, обмен протекает в условиях, совпадающих с условиями енолизации, и механизм изотопного обмена в этом случае идентичен механизму тautомерных кето-енольных превращений. Для введения Т в α -положение к кетогруппе в тестостероне, прогестероне и другие 3-кетостероиды предложен^{24, 25} удобный preparativный метод, состоящий в пропускании раствора вещества в органическом растворителе через колонку, которая наполнена основной окисью алюминия, предварительно обработанной НТО. Сходным способом — изотопным обменом с изо-PrOT в присутствии водного NaOH — введен Т в 2- и 4- положения 3-кето-5 α -холестанил-26-ацетата (VIII)²⁶.

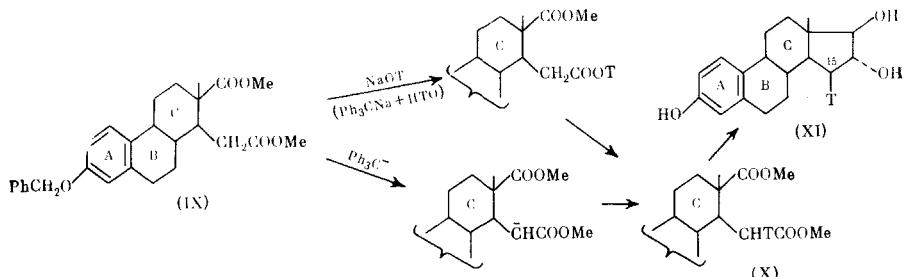


Атомы Т, введенные этими способами в стероидную молекулу, в кислой и нейтральной средах вполне стабильны, однако при pH > 10 уже при обычной температуре за 24 час обмениваются на Н на 80—95%.

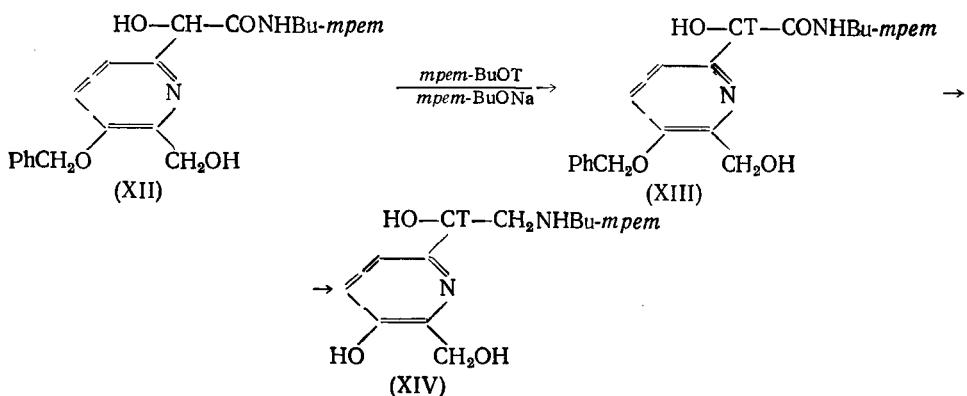
Изотопный водородный обмен в метиленовой группе, активированной соседним карбонилом, легко протекает в щелочной среде также в аминосахарах (рН 11—11,5; 20°; 48 час), как показано на примере 2-ацетамино-2-дезокси-D-глюкозы²⁷, в которую этим методом удается с хорошим выходом ввестидейтерий в положение 2. Поскольку в этих условиях протекает также щелочная эпимеризация, в качестве побочного продукта образуется 2-ацетамино-2-дезокси-D-манноза-(2-C-D).

Стероидные лактоны — сердечные гликозиды ряда дигитоксина и их агликоны обмениваются с НTO в ДМФА в присутствии Et₃N (30—80°, 2—8 час), причем более 95% трития включается в лактонное кольцо. Этим методом получены меченные Т дигитоксин, дигитоксигенин, дигоксин, гитоксигенин, уабаин с $\alpha \sim 0,4—0,7$ кюри/ммоль²⁸.

Основный гомогенный катализ использован также в синтезе эстриола-(15-T) (XI)²⁹. 3-Бензилат диметилового эфира марианолевой кислоты (IX) при последовательной обработке трифенилметилнатрием и НTO тритируется в α -положение к карбометоксильной группе, а из образовавшегося меченого эфира (X) в результате ацилоиновой конденсации и последующего восстановления синтезирован эстриол-(15-T) (XI); это соединение содержит атом Т в таком положении молекулы, из которого он не удаляется водой, содержащейся в животных организмах.

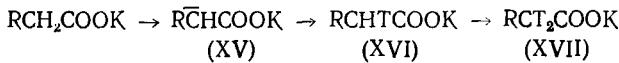


Легко (20°, 16 час) протекает изотопный обмен между N-*трет*-бутиламидом 2-(5-бензилокси-6-оксиметилпиридилил-2)-2-оксиуксусной кислоты (XII) и *трет*-BuOT в присутствии *трет*-BuONa. Полученный амид-(α -T) (XIII) является исходным для синтеза (восстановление B₂H₆ и последующее каталитическое дебензилирование) меченого лекарственного препарата пирбутерола (XIV)³⁰:



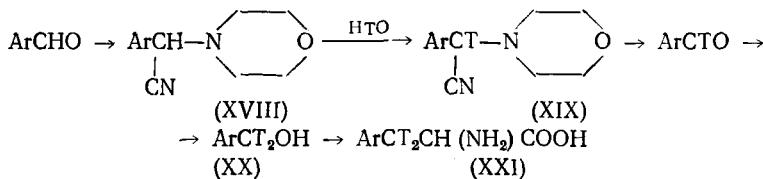
Атомы водорода α -метиленовой группы подвижны не только в лактонах, сложных эфирах и амидах кислот (как это видно из приведенных выше примеров), но и в самих карбоновых кислотах. Натриевые или ка-

лиевые соли жирных кислот (от масляной до стеариновой) при нагревании с NaOH и D₂O или HTO в жестких условиях (автоклав, 200°, 1—3 дня) с промежуточным образованием соответствующих карбанионов (XV) превращаются с хорошими выходами в соли α -меченых кислот (XVI) и (XVII):³¹

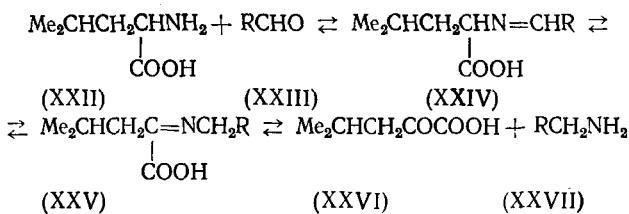


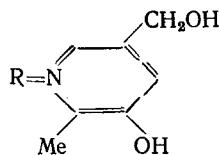
В сходных условиях обмениваются на D или T α -атомы водорода молочной³², хризантемовой³³ и абсцисиновой³⁴ кислот, причем в последнем случае T включается также в положение 4 и метильную группу, связанную с C (5); полученный препарат имеет высокую $a \sim 6,5$ кюри/ммоль.

Изотопный обмен у аминокислот в этих условиях протекает неудовлетворительно. Поэтому для получения меченых аминокислот применяют другие, более сложные методы; некоторые из них также включают изотопный обмен, катализируемый основаниями. Например, ароматические альдегиды при действии морфолина и водного раствора NaCN легко переводятся в морфолиноацетонитрилы (XVIII), которые обменивают водород в α -положении к цианогруппе при нагревании с D₂O или HTO (ДМФА или сульфолан, 100°, ~5 час)³⁵. Гидролиз меченых нитрилов (XIX) приводит к альдегидам, содержащим T в формильной группе; при диспропорционировании этих альдегидов по реакции Канницаро образуются соответствующие бензиловые-(α,α -T₂) спирты (XX), которые известными синтетическими методами превращаются в ароматические аминокислоты (фенилаланин, тирозин, диоксифенилаланин), меченные тритием в β -положении (XXI):



Оригинальная возможность изотопного обмена водорода в аминокислотах в условиях основного катализа продемонстрирована с помощью дейтерия на примере лейцина (XXII)³⁶, который при кипячении в D₂O в присутствии пиридоксала (XXIII) и калиевых квасцов с хорошим выходом превращается в лейцин-(α,β,β -D₃). В этих условиях между лейцином и пиридоксалем, с одной стороны, и кетокислотой (XXVI) и пиридоксамином (XXVII) — с другой, устанавливается обратимое равновесие с промежуточным образованием соответствующих оснований Шиффа (XXIV) и (XXV). Таутомерия этих оснований (XXIV) ⇌ (XXV) в среде D₂O обусловливает водородный обмен в α -положении лейцина, тогда как обмен в β -положении является, по всей вероятности, следствием кето-енольной таутомерии кетокислоты (XXVI).





Многочисленные исследования кинетики водородного обмена в пептидах и белках (см. например³⁷⁻⁴¹), а также в полиамидах, рассматриваемых в качестве моделей белка⁴¹⁻⁴⁴, свидетельствуют, подобно тому как это отмечалось выше для полинуклеотидов, о значительном влиянии полимерной матрицы (в частности, белковой) на характер переходного состояния и механизм обмена. Скорость обмена определяется пространственной доступностью для растворителя различных участков белковой молекулы и минимальна при наиболее упорядоченных структурах. На примере коллагена⁴⁵ показано, что в результате разрыва внутримолекулярных водородных связей изотопный обмен с D_2O ускоряется.

Атомы водорода в ароматических соединениях также способны к изотопному обмену в щелочной среде (растворы NaOT или KOT в HTO или в HTO -диметилформамиде, MeONa в MeOT , KNT_2 в жидком NT_3)⁴⁶. Обмену способствует наличие метоксигрупп и в особенности фенольных OH -групп в качестве заместителей в ароматическом ядре, что использовано для введения Т в *ортого*- или *пара*-положения к оксигруппе в фенольных аминокислотах⁴⁷ и в фенольных алкалоидах, родственных морфину⁴⁸⁻⁵¹. Гетероароматические соединения и их гидропроизводные также обмениваются в аналогичных условиях; при этом наиболее эффективно обмен протекает в жидком NT_3 ^{46, 51}, однако экспериментальные трудности при работе с этим растворителем ограничивают его практическое использование. В случае азотистых гетероциклов обмен значительно ускоряется при наличии у атома азота сильных электроноакцепторных заместителей (оксидный кислород, нитрозогруппа)^{46, 52, 53}. Механизм обмена включает две стадии — образование карбаниона и его последующее взаимодействие с меченой средой; лимитирующей может быть как первая стадия (при обмене метильных водородов в метилзамещенных гетероциклах)⁵³, так и вторая (при обмене водорода у С(3) в 2-замещенных индолах)^{54, 55}.

2. Кислотный катализ

При кислотном гомогенном катализе изотопного обмена водорода промежуточный ион карбония (карбокатион) играет ту же роль, что и карбанион в условиях основного катализа (см. выше). Карбокатион может образовываться либо в результате отрыва от молекулы гидридиона, либо (чаще) в результате присоединения T^+ или D^+ к ненасыщенному атому углерода. Именно последний вариант реализуется в многочисленных реакциях водородного обмена в ароматических системах. В качестве кислотных агентов применяются (см. обзор⁵⁶) сильные протонные кислоты (серная, фосфорная, хлорная, трифтормуксусная, соляная), слабые кислоты (например, уксусная), кислоты Льюиса (AlCl_3 , AlBr_3 , EtAlCl_2), комплекс $\text{H}_2\text{TPO}_4 \cdot \text{BF}_3$ (так называемый реагент Яворского⁵⁷).

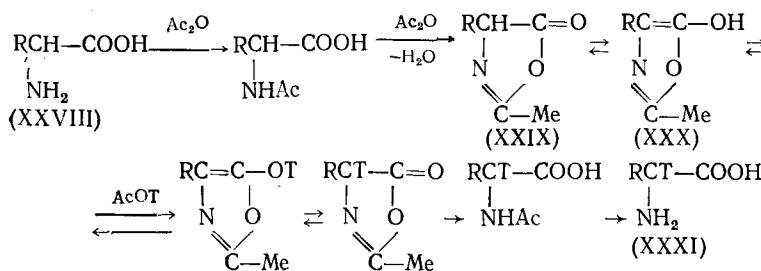
Практически все эти агенты с успехом используются для введения тритиевой метки в ароматические и гетероароматические соединения, хотя в некоторых случаях с HTSO_4 при повышенных температурах протекают нежелательные побочные реакции. Однако в *l*-фенилаланин или в его *n*-нитрофениловый эфир Т введен с высокими выходами при

нагревании ($90\text{--}100^\circ$, 48—72 час) с разбавленной HTSO_4 (из SO_3 и HTO), причем $\sim 95\%$ включившегося Т содержится в бензольном ядре, а $\sim 5\%$ — в β -положении⁵⁸. Обмен сопровождается незначительной ($<4\%$) рацемизацией; значение a полученных препаратов составляет несколько мкюри/ммоль.

Для получения других меченых Т ароматических аминокислот с a такого же порядка чаще используют 3—4 N растворы TCI в HTO (нагревание при $40\text{--}90^\circ$). В этих условиях 3-окси-*l*-кинуренин обменивается только в бензольном кольце⁵⁹, а *l*-5-окситрилтофан — в положениях 2, 4 и 6 индольного ядра^{60, 61}, тогда как боковые цепи не затрагиваются, и обмен не связан с рацемизацией. При повышении температуры (100° , несколько часов) удается достичнуть обмена всех атомов водорода ароматического ядра в *L*-5-окситрилтофане⁶⁰, атомов водорода в положениях 3 и 5 тирозина и в положениях 2, 5 и 6 3,4-диоксифенилаланина⁴⁷, тогда как в трилтофане, как показано⁶² с помощью D, атомы водорода в положениях 2 и 6 (быстро) и в положениях 4, 5 и 7 (медленно) обмениваются только в среде трифторуксусной кислоты. Как и тирозин, 4-аминобензойная кислота при нагревании с 3 N TCI в HTO (90° , 36 час) также обменивается в положениях 3 и 5. Этот препарат с $a=2,5$ мкюри/ мг использован⁶³ для синтеза меченого тритием 4-метилпиперазида 4-[*N*-(7-трифторметилхинолил)-амино] бензойной кислоты, который обладает действием на центральную нервную систему.

С помощью D показано также, что кислая среда (DCl в D_2O или AcOD) пригодна для введения метки не только в бензольное ядро, но также и в небензоидные ароматические и гетероароматические природные соединения — азулены^{64, 65}, индолы (положение 3)⁶⁶, хлорофилл⁶⁷, порфирины⁶⁸. В этой же среде — DCl (TCI) в AcOD (AcOT) — при 120° обмениваются α -атомы водорода карбоновых кислот и аминокислот⁶⁹, а некоторые жирные кислоты, например стеариновая⁷⁰, обмениваются с HTO (130° , 48 час, a достигает 1 кюри/г после отмычки лабильного Т) без каких-либо дополнительных кислотных добавок.

Что же касается тритийсодержащих аминокислот (XXXI), то для них более общим методом получения является кипячение с Ac_2O в AcOT (реагент готовится прибавлением избытка Ac_2O к HTO) с последующей обработкой HTO ⁷¹⁻⁷⁴. В этом случае обменивается исключительно (или почти исключительно) атом водорода в α -положении, обмен сопровождается рацемизацией и в действительности происходит не в самой аминокислоте (XXVIII), а в промежуточном азлактоне (XXIX), который превращается в таутомерную форму (XXX).

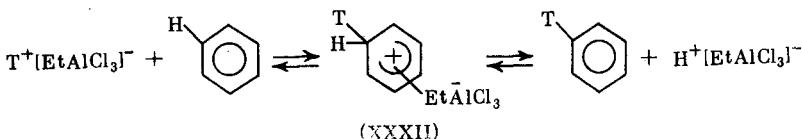


Несмотря на то, что по данному методу получаются *DL*-аминокислоты, в сочетании с ферментативным расщеплением рацематов он может быть использован и для получения меченых *L*-аминокислот⁷⁵. Недавно аналогичная процедура (Ac_2O в AcOD и затем обработка D_2O) предложена как общий метод введения D в α -положение аминокислот⁷⁶.

Применение в качестве тритирующего агента для ароматических соединений и соединений, содержащих третичный водород, реактива Яворского (комплекс $\text{TH}_2\text{PO}_4 \cdot \text{BF}_3$) имеет ряд преимуществ (обмен протекает уже при комнатной температуре; отсутствуют побочные реакции, что обусловливает радиохимическую чистоту продуктов)^{57, 76}, однако этот реактив из-за невысоких значений a (максимум — несколько десятков $\mu\text{кюри}/\text{ммоль}$), достигаемых с его помощью, для получения меченых БАВ практически почти не использовался. Исключение составляли инсектициды (ДДТ, паратион, севин и их аналоги)⁷⁷, тропин и мескалин⁷⁸. В последнее время этот список расширен за счет инсулина ($a \sim 6,5 \mu\text{кюри}/\text{ммоль}$)⁷⁹, а также некоторых фенолов ($a = 10-80 \mu\text{кюри}/\text{ммоль}$), превращенных в результате этерификации в меченные гиполипидемические средства (в том числе клофифрат)⁸⁰.

Модификация реактива Яворского — комплекс $\text{AcOT} \cdot \text{BF}_3$ (приготавливается последовательным добавлением к НТО небольшого избытка Ac_2O и эквивалентного количества BF_3) с самого начала был предложен⁸¹ именно для введения тритиевой метки в БАВ — аминокислоты, пептиды, белки (α -липопротеин, рибонуклеопротеин, соматотропин, инсулин), холестерин. Обмен протекает в мягких условиях ($20-24^\circ$, ~ 20 час), однако некоторые белки (человеческий альбумин, овальбумин) все же денатурируются, а достигнутые значения a не превышают $150 \mu\text{кюри}/\text{г}$.

Кислоты Льюиса — AlCl_3 , AlBr_3 , MeAlCl_2 , EtAlCl_2 , WCl_6 , SbCl_5 , BBr_3 — являются катализаторами изотопного обмена водорода, главным образом для ароматических соединений, и поэтому их применение для получения меченых БАВ весьма ограничено. Наилучшие результаты достигнуты в случае полиядерных ароматических углеводородов — метилхолантрена, 3,4-бензпирена, 9,10-диметил-1,2-бензантрацена, которые являются сильными канцерогенами и широко используются в онкологических исследованиях. Эти углеводороды при многодневной ($14-50$ дней при 20°) выдержке с НТО и AlCl_3 в среде CS_2 превращаются в соответствующие общемеченные соединения с $a \sim 20-50 \mu\text{кюри}/\text{ммоль}$ ⁸². Менее удачными оказались попытки применить AlCl_3 в качестве катализатора обмена между НТО и урацилом, аденином, глицином или его пептидами (в CH_2Cl_2 при 80°)⁸³. Наиболее эффективным из всех катализаторов подобного типа является, по-видимому, EtAlCl_2 , в присутствии которого для бензола, его гомологов и производных полное равновесие между всеми ароматическими водородами достигается при 20° уже за 30 мин⁸⁴. В этом случае TCI , образующаяся в результате частичного гидролиза катализатора, играет роль кокатализатора: получающаяся из TCI и EtAlCl_2 сильная кислота $\text{T}^+[\text{EtAlCl}_3]^-$ присоединяется к ароматическому ядру, давая комплекс (XXXII). Равновесие между углеводородом, кислотой и комплексом и обуславливает водородный обмен⁸⁵:



По аналогичному механизму протекает катализ и другими кислотами Льюиса. Предложено⁸⁶ использовать систему НТО — EtAlCl_2 для введения Т в алканы и циклоалканы (в том числе и стероиды), содержащие, по крайней мере, один третичный атом водорода. Однако для достижения удовлетворительных значений a требуется достаточно высокая температура (96°), которая способствует также и реакциям скелет-

ной изомерации в промежуточном ионе карбония, что приводит к образованию меченых побочных продуктов. Для стероидов или других БАВ этот метод сколько-нибудь серьезного распространения не получил.

При катализе с помощью кислот Льюиса реакции обмена Н на D экспериментальная процедура упрощается, так как в качестве меченой среды можно использовать дейтерированные ароматические углеводороды (чаще всего C_6D_6)^{84, 87}.

Особую разновидность кислотного гомогенного катализа представляет собой водородный изотопный обмен в кислой (иногда слабокислой) среде, инициируемый различными типами облучения (ультрафиолетовое^{88–92}, гамма-^{93, 94}, собственное излучение НТО высокой α ^{95, 96}). Такой обмен происходит как в ароматическом^{88–92}, так и в жирном ряду^{93–96} (в частности, у углеводоров^{94, 95}); инициирование облегчается при добавлении в среду веществ, легко образующих радикалы,— иодистого калия^{89, 90}, меркаптанов⁹⁴. Во всех случаях на промежуточной стадии образуются радикалы: в ароматическом ряду — в результате присоединения Т·, в жирном — в результате отрыва Н·. Например, при обмене между бензолом и НТО в кислой среде в присутствии КІ облучение вызывает, прежде всего, распад иона I^- на I^{\cdot} и сольватированный электрон⁸⁹. Взаимодействие последнего с катионом H_2TO^+ приводит к H_2O и T^{\cdot} , присоединение которого к молекуле бензола с последующим отщеплением Н от радикала $[PhHT]^{\cdot}$ обусловливает включение трития в ароматическое ядро. В слабокислой среде сольватированные электроны могут перехватываться молекулами бензола с образованием аниона $[PhH]^-$, который превращается в радикал $[PhHT]^{\cdot}$ в результате взаимодействия с тритийсодержащей средой⁹⁰.

На основании опубликованных до настоящего времени данных изотопный обмен, инициируемый облучением, представляется малопригодным для препаративного получения меченых БАВ. Основная причина этого — побочные процессы. Даже у простых соединений наблюдается обращение конфигурации вследствие гомолиза связи С—Н при асимметрическом атome углерода. Так, инициируемый гамма-облучением изотопный обмен между (+)-винной кислотой и НТО приводит к смеси (1:1) меченых (+)- и мезо-венных кислот, а из мезо-винной кислоты в этих условиях получается смесь меченых мезо- и (\pm)-венных кислот⁹³. Аналогичным образом при инициируемом собственным излучением обмене между НТО и хиро-инозитом образуются тритированные хиро-, мио- и алло-инозиты (но не муко-инозит)⁹⁵. В этом случае отмечена большая легкость обмена экваториальных атомов водорода по сравнению с аксиальными.

3. Катализ солями переходных металлов

С точки зрения получения меченых БАВ невелика препаративная ценность и последней из рассматриваемых разновидностей гомогенного катализа — изотопного обмена с НТО в присутствии растворимых хлороплатинатов (Na_2PtCl_4 и K_2PtCl_4). Этот обмен также протекает в кислой среде (уксусная кислота добавляется для гомогенности раствора, а соляная кислота препятствует осаждению металлической Pt) и требует повышенной температуры (от 50 до 130°)^{97–101}. Механизм обмена включает образование из субстрата и переходного металла комплекса типа π -комплекса⁹⁸. Поэтому описываемый метод эффективен прежде всего для атомов водорода ароматического ядра, причем полициклические соединения (нафталин, антрацен, фенантрен) специфично обмениваются в β -положении. Как показало сравнительное исследование¹⁰²,

для введения дейтериевой метки в гексэстрол, эстрон, тестостерон и холестерин катализ в присутствии K_2PtCl_4 , предпочтительнее (требует более низкой температуры и меньшей продолжительности), чем гетерогенный катализ обмена с растворителем в присутствии Pt.

Описан также гомогенный катализ суплемой изотопного обмена между нуклеозидом [2-ацетамино-6-хлор-9-(2'-дезокси-3',5'-ди-O-n-толуил-D-рибофуранозил)-9Н-пурин] и тритийсодержащими ароматическими растворителями — бензолом и толуолом (кипячение в течение 0,5 час) ¹⁰³. В этих сравнительно мягких условиях эффективность обмена невелика (*a* меченого нуклеозида в $\sim 10^4$ раз ниже, чем у исходного растворителя), а включенный тритий распределяется между пуриновой и углеводной частями молекулы нуклеозида в соотношении 84 : 16.

IV. ГЕТЕРОГЕННЫЙ КАТАЛИЗ ИЗОТОПНОГО ОБМЕНА

Рассмотренные выше методы гомогенного катализа изотопного обмена лишь в некоторых случаях дают возможность получать тритийсодержащие соединения с высоким значением *a* (порядка нескольких десятков *кюри/ммоль* или хотя бы нескольких *кюри/ммоль*). В отличие от них при гетерогенном катализе таких высоких значений *a* достичь значительно легче, что и составляет главное достоинство этой группы методов. В качестве источника трития при гетерогенном катализе изотопного обмена в растворе могут использоваться как тритийсодержащие растворители (чаще всего вода), так и газообразный T_2 .

1. Обмен с тритийсодержащими растворителями

В этом случае экспериментальная процедура обычно заключается в продолжительном нагревании смеси вещества, тритийсодержащего растворителя и катализатора. Метод стал широко применяться с начала 50-х годов, и сводку ранних работ по данному вопросу (до 1964 г.) можно найти в первом издании монографии Эванса ¹⁰⁴. В настоящее время этот метод получил весьма широкое распространение, и один из крупнейших производителей мировой изотопной продукции — английский Радиохимический центр в Амершеме — использует его для промышленного выпуска разнообразных меченых тритием соединений, в том числе и большого числа БАВ.

Катализаторами при обмене с растворителем могут служить почти все металлы VIII группы периодической системы — Pt, Pd, Co, Ni, Ru, Rh, Ir, которые приготавливаются восстановлением их солей с помощью $NaBH_4$ или восстановлением их окислов действием T_2 (или D_2) ^{105—108} и используются как таковые (Pt-чернь, Pd-чернь и т. д.) или на различных носителях (силикагель, активированный уголь, Al_2O_3 , $BaCO_3$, $CaCO_3$). В Амершеме предпочтение отдается Pt-катализатору ¹⁰⁵, но имеются сообщения о высокой эффективности никелевого (катализатор Ренея) и хромо-никелевого катализаторов ^{109, 110}. При выборе катализатора следует учитывать его влияние на внутримолекулярное распределение введенного T (как правило, Pt и Pd менее специфичны; подробнее см. ниже), а также то обстоятельство, что As-, S- и некоторые N-содержащие соединения отравляют многие (но не все) катализаторы.

Наиболее распространенной средой при гетерогенном катализическом обмене в растворе является сама НТО, а также смесь (70 : 30) AcOT и НТО. Для достижения высоких *a* требуются температура ~ 120 — 150° и выдерживание от 2 до 20 час (в редких случаях существенно больше — до 65—90 час). В этих условиях тритий вводится в

ТАБЛИЦА 1

Биологически активные вещества, меченные методом гетерогенного катализитического обмена с растворителем (катализатор — Pt-чернь)*

Вещество	<i>a</i> растворите-ля**	<i>t</i> , °C	Время, час	Выход, %	<i>a</i> продукта, мкюри/ммоль
Растворитель — НТО					
<i>DL</i> -Аланин	1,8	140	16	30	1 130
Анисомицин	150	100	16		285
<i>DL</i> -Аспарагиновая кислота	1,35	130	15	68	466
<i>DL</i> -Валин	1,08	120	16	80	20
Витамин <i>B</i> ₁₂	80	140	20	50	4 604
Глицин	1,04	100	8,5	58	176
<i>DL</i> -Глутаминовая кислота	1,8	130	15	15	74
Гуанин [†]	70	145	20	50	150
Гуанозин	90	130	16	20	481
Дезоксигуанозин	87	120	3	0,2	1 000
Дезоксицитидин	70	130	16	0,4	1 527
<i>DL</i> -3,4-Диксифенилаланин	1,35	125	16	35	268
<i>DL</i> -Изолейцин	1,8	155	16	40	314
Изоникотиноилгидразин	100	125	16	72	1 323
Кумарин	6,3	130	16	34	2 242
<i>DL</i> -Лейцин	0,54	120	66	47	103
5-Метилцитозин	100	130	16	10	15 600
Никотин	35	100	72	33	82
Пиридоксин	200	120	16	3	1 500
<i>DL</i> -Серин	1,44	130	15	60	138
Стильбестрол	10	140	5	42	295
<i>DL</i> -Тирозин	1,35	150	17	48	102
<i>DL</i> -Триптофан	1,44	100	18	28	685
<i>DL</i> -Фенилаланин	2,16	140	16	50	1 800
Растворитель — 70%-ная AcOT					
Аденин	67	130	14	70	439
Аденозин	63	110	8	5	680
Андростендион	40	150	48	50	3400
1,2-Бензантрацен	150	150	16	40	655
3,4-Бензипрен	25	160	16	64	451
Гипоксантин	50	150	15	30	630
Дезоксиаденозин	67	100	6,5	7	627
Дезоксиуридин	33	100	5	20	385
9,10-Диметил-4,2-бензантра- цен	30	150	16	50	3250
Инозин	50	100	20	8	642
Кортикостеронацетат	38	130	16	32	1590
Кофеин	25	150	16	36	1280
2-Метилхолантрен	225	145	16	14	3150
Оротовая кислота	250	140	15	65	115
Преднизолон	160	150	5	10	685
Прогестерон	88	140	16	43	509
Теофиллин	75	140	16	21	1480
Тимидин	100	170	15	20	8600
Уракил	50	155	16	50	482
Уридин	75	120	16	35	1008
Холестерин	180	155	16	23	1620
Цитозин	40	100	20	40	300
Эстрадиол	200	140	16	21	174
Эстрон	14	130	90	56	188

* Реакционная смесь — 0,2—0,5 г вещества с 50—100%-ным (по весу) количеством катализатора в 2—4 мл растворителя.

** Приведены значения в мкюри/ммоль при обмене с аминокислотами и кумарином; в мкюри/мл во всех остальных случаях.

большинство низкомолекулярных БАВ. Побочными реакциями могут быть миграция Δ -связи (в ненасыщенных соединениях), частичное гидролитическое расщепление и (при использовании AcOT) ацетилирование; однако образующиеся меченные побочные продукты имеют примерно такую же величину a , что и основное соединение. Благодаря этому их разделение, как правило, не представляет собой трудной проблемы (что является выгодным преимуществом перед методом Вильцбаха и его модификациями). Величина a получающихся продуктов, разумеется, зависит от величины молярной a растворителя и в наиболее благоприятных случаях составляет до 80% последней.

В табл. 1 приведены конкретные результаты, достигнутые английским Радиохимическим центром при получении описываемым методом (катализатор — Pt-чернь) некоторых низкомолекулярных БАВ¹⁰⁵. Видно, что легкость введения Т в различные соединения даже одного и того же класса (например, в аминокислоты) различна. В большинстве случаев обмен водорода в ароматических ядрах протекает легче, чем в алифатических остатках. Следует также отметить, что значения, a , приведенные в табл. 1 для легко обменивающихся веществ, отнюдь не являются предельными. Так, недавно сообщалось²¹ о получении аденоцинтрифосфата с $a=23,3$ кюри/ммоль в результате катализируемого Pt обмена с НТО.

Что касается не упомянутых в табл. 1 классов БАВ, то обмен с НТО в присутствии Pt (140°, 20—70 час) использован для введения Т в терпены (~2 мкюри/мг)¹¹¹; для углеводов на примере (—)-инозита ($a=-3,39$ мкюри/ммоль) показана возможность применения в качестве катализатора не Pt, а «самоактивирующейся» PtO₂ (HTO, 130°, 48 час)¹¹². Однако более перспективным для введения метки в углеводы представляется Ni Ренея, катализирующий обмен между D₂O и α -метил-D-маннопиранозидом, β -метил-D-галактопиранозидом, 1,2-O-изопропилен- α -глюкофuranозой, α,α -трегалозой, мелезитозой, рафинозой и сахарозой (100°, 10 час)¹⁰⁹.

Основными недостатками рассматриваемого метода являются использование очень больших количеств (до 500 и более кюри) НТО и относительная жесткость условий обмена. Чтобы преодолеть первый из этих недостатков, предложено^{113, 114} получать необходимую для обмена меченую воду окислением газообразного T₂ супензией PtO₂ в AcOH, диоксане или метаноле в том же приборе, в котором затем проходит и сам обмен; обмен катализируется платиной, которая образуется при восстановлении PtO₂. Это дает возможность располагать тритированной водой максимальной удельной активности, легко удалять избыточный T₂ и в ряде случаев снимает проблему растворения исходного вещества. С помощью такой модификации метода получены (AcOH, 120°, 24 час) меченные фолиевая кислота и уридин с $a \sim 1-3$ кюри/ммоль¹¹³, а в более мягких условиях (диоксан или MeOH, ~20°, 4—24 час) — гераниол, линалоол, гибберилловая кислота, окситетрациклин и фенилаланин с a от 50 до 500 мкюри/ммоль¹¹⁴.

Как видно из последнего примера и как уже указывалось выше, для достижения высокой величины a требуется повышенная температура. Этот недостаток метода существенно ограничивает круг БАВ, к которым он может быть применен, так как биополимеры (в частности, полипептиды и белки) в большинстве случаев при нагревании разрушаются, а оптически активные аминокислоты рацемизуются. Так, хотя L-фенилаланин при 30° обменивается с НТО в присутствии Pt без рацемизации (поскольку боковая цепь не затрагивается и более 90% включившегося Т локализуется в бензольном ядре), общее включение Т невелико, в то время как при 130° получается общемеченный DL-фенилаланин¹¹⁵. Высо-

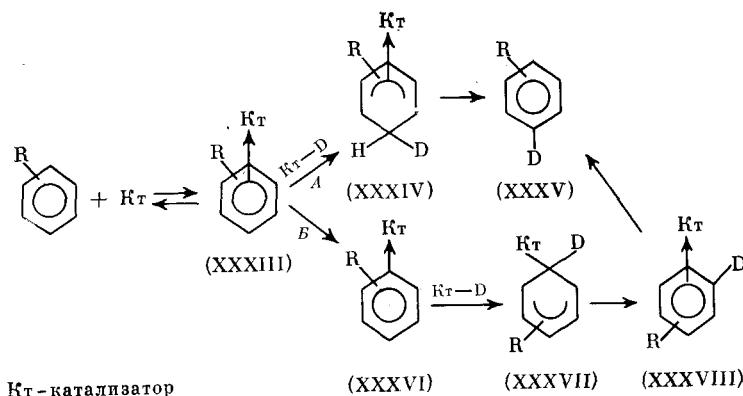
кая степень рацемизации (20—50% D-формы) в условиях обмена с НТО при 120—150° отмечена также¹⁰⁵ для L-тироцина, L-триптофана и L-метионина, тогда как для аргинина, лизина и лейцина степень рацемизации не превышала 5%, но и значения α были ниже 200 мкюри/ммоль.

Кроме того, как было показано с помощью дейтерия, катализирующий в мягких условиях платиной изотопный обмен водорода в ароматическом ядре наблюдается в фенилаланине и его трипептиде, но он практически отсутствует для фенилаланильных и тирозильных остатков в таких белках, как лизоцим и рибонуклеаза (возможные причины — пространственные затруднения для адсорбции этих остатков на катализаторе или необратимое отравление катализатора белком)¹¹⁶. Все же наиболее вероятна решающая роль конформационных факторов, поскольку в результате продолжительной выдержки (40°, 72 час) с 35 кюри НТО и Pt-чернью удалось получить меченую рибонуклеазу с $\alpha = 17,3$ кюри/ммоль; при этом основное количество Т содержалось в остатках валина, лизина, аргинина и глутаминовой кислоты¹¹⁷. В этих же условиях в окисленную рибонуклеазу тритий вводится значительно хуже ($\alpha = 0,2$ кюри/ммоль), и главным образом — в остатки гистидина серусодержащих и ароматических аминокислот. В работе¹¹⁸ с помощью гетерогенного катализитического обмена с растворителем (смесь НТО и AcOT, Pt-чернь, 80°) были получены тритийсодержащие полипептиды — охратоксины А, В и С (выход 80%, α до 3 кюри/ммоль), причем охратоксин А был мечен в основном (более 80%) по фенилаланильным остаткам¹¹⁸.

Один из несущественных недостатков рассматриваемого метода заключается в неопределенности и непредсказуемости локализации Т в получающихся меченых соединениях. Эти соединения называют общемеченными или неопределенными мечеными (в отличие от специфично меченых и равномерно меченых). Внутримолекулярное распределение Т зависит от ряда факторов (прежде всего от температуры и природы катализатора), причем имеются указания¹¹⁹ на плохую воспроизведимость результатов по внутримолекулярному распределению. Выше уже отмечалось влияние температуры на локализацию Т в фенилаланине, однако и при высокотемпературном обмене (135°, 18 час), сопровождающемся полной рецемизацией, тритий не распределяется равномерно между боковой цепью и ароматическим ядром, а сосредоточен преимущественно в последнем (в соотношении 27:73)¹²⁰. Определенная селективность имеет место и в ряде других случаев: урацил при катализе Pt-чернью обменивает с НТО преимущественно атомы водорода в положениях 5 и 6¹²¹; обмен между (—)-инозитом и НТО в присутствии PtO₂ приводит к преимущественному (на 92,5%) включению Т в положения 1 и 6¹¹⁷; обмен сахаров с D₂O в присутствии Ni протекает по C (5) и C (6) значительно быстрее, чем по C (2) и C (3)¹⁰⁹; Со катализирует обмен водорода в гетероциклах исключительно в α -положении¹⁰⁸. Отравление катализатора также влияет на локализацию Т: так, при добавлении пиридина катализируемый Pd/C обмен между НТО или D₂O и алкилбензолами селективно замедляется для орто-положения к алкильной группе¹²².

Что касается механизма гетерогенного катализа обмена с растворителем, то на различных катализаторах обмен протекает по-разному. Для наиболее распространенного случая обмена ароматических соединений в присутствии Pt было предложено¹²³ (по результатам изучения дейтерообмена) на первой стадии образование π-комплекса (XXXIII). Этот комплекс затем либо взаимодействует с сорбированным на катализаторе (в результате диссоциативной хемосорбции воды) дейтерием

• (тритием), превращаясь через переходное состояние (XXXIV) в меченое соединение (XXXV) («ассоциативный механизм»; А), либо («диссоциативный механизм»; Б) предварительно переходит в σ -комплекс (XXXVI), который медленно образует с сорбированным на катализаторе дейтерием (тритием) продукт присоединения (XXXVII). Из последнего через меченный π -комплекс (XXXVIII) получается меченое соединение (XXXV). Диссоциативный механизм считается¹²³⁻¹²⁵ более вероятным.



2. Обмен с газообразным тритием

Использование газообразного T_2 в качестве источника трития при гетерогенном катализе водородного обмена в растворе имеет ряд преимуществ перед использованием тритийсодержащих растворителей (см. обзоры^{125, 126}). Это прежде всего возможность проводить обмен при обычной температуре, и получать при этом уже за несколько часов меченные соединения с $a \sim 1-10$ кюри/ммоль (а иногда и более). Метод состоит в перемешивании раствора 10—50 мг вещества в нескольких мл подходящего растворителя в атмосфере 10—25 кюри T_2 в присутствии катализатора. Таким образом, общая радиоактивность в опыте примерно в 10 раз меньше, чем при обмене с растворителем. Обмен проходит быстрее, если давление T_2 равно атмосферному, но это условие не является обязательным, и иногда высокие значения a достигаются за несколько часов даже при давлении 160 мм рт. ст.¹²⁷ Реакцию проводят в специальной вакуумной системе (подробное описание такой проверенной на практике вакуумной установки см. ¹²⁸).

Влияние различных факторов (растворитель, температура, катализатор) на протекание обмена с T_2 изучено недостаточно полно, однако установлено, что особых ограничений в выборе растворителя, по-видимому, не имеется. Применяются как органические растворители (диоксан, метанол, гексан, CCl_4 , CS_2 , уксусная кислота и др.)^{129, 130}, так и вода или водные буферные растворы с нейтральными или щелочными значениями pH ¹³¹. Изотопный обмен между T_2 и органическими растворителями в этих условиях невелик; он медленно возрастает в ряду диоксан < тетрагидрофуран < этилацетат¹³². Но и этилацетат может быть с успехом использован (например, при обмене между T_2 и холестерином)¹³³. Хорошие результаты получаются уже при 20—25°, но имеются указания^{130, 134}, что повышение температуры до 60—65° позволяет в 2—3 раза увеличить значение a продуктов обмена.

В качестве катализаторов наиболее часто применяются^{131, 134} Pd и Pt или их окислы (в последнем случае обмену предшествует восстановле-

ние окислов до металлов) как таковые или нанесенные на различные носители (CaCO_3 , BaSO_4 , активированный уголь, Al_2O_3 ; кроме того, применяются также Ni^{135} , $\text{Rh}/\text{Al}_2\text{O}_3^{136}$ и некоторые другие катализаторы. Характер носителя не имеет существенного значения^{137, 138}, хотя в некоторых случаях применение CaCO_3 подавляло побочные реакции¹³⁸. Более важен способ активации катализатора: при предварительном восстановлении PdO или PtO_2 с помощью H_2 (вместо T_2) значение a продуктов уменьшается в 30—60 раз^{129, 134}.

Гетерогенный обмен с T_2 в растворе успешно применен для введения метки в углеводы, нуклеотиды, стероиды и некоторые другие БАВ, содержащие ароматические или гетероароматические ядра, причем в большинстве случаев отмечена селективность (или даже специфичность) обмена. *D*-Глюкоза-(1-Т) очень легко ($\sim 20^\circ$, 1 час) получается в результате обмена с T_2 в 0,1 M фосфатном буферне в присутствии PdO/BaSO_4 ; $a=5,4$ кюри/ммоль¹³¹. Столь же специфично обмениваются и другие альдозы — *L*- и *D*-арabinозы, *L*- и *D*-фукозы, *D*-рибоза, мальтоза, лактоза. Наличие альдегидной группы является обязательным условием обмена: в аналогичных условиях ввести Т в сорбит, α - и β -метилглюкозиды или трегалозу не удается¹³¹. С помощью рассматриваемого метода Т введен и в более сложные соединения, содержащие углеводные остатки: Pt катализирует обмен T_2 с аминогликозидным антибиотиком сагамицином¹³⁹, 30%-ный Pd/C — обмен с гепарином (вода — этилкарбитол, $\sim 20^\circ$, 48 час)¹⁴⁰; путем обмена в присутствии PdO/BaSO_4 в фосфатном буфере получены меченные нуклеозиды и нуклеотиды, а также антибиотик пуромицин с высоким значением a и радиохимической чистотой 90—98% (см. табл. 2)¹³¹.

В пуриновых производных легче всего обменивается водород в положении 8¹³¹; в пириимины — 5-оксиурацил и 5-аминоурацил (5%-ный Pd/BaSO_4 , вода, 23° , 3 час) тритий вводится избирательно в положение 6; a равно 0,35 и 2,36 кюри/ммоль соответственно¹²⁷.

Следует отметить, что тритий, введенный в галактозилцерамид и глюкозилцерамид (10 кюри T_2 , 10%-ный Pd/C, хлороформ — метанол в присутствии пиридина, $\sim 20^\circ$), почти полностью (на >98%) локализован в сфинголипидной части молекулы, в том числе на >80% — в жирнокислотном остатке¹⁴¹.

Обмен T_2 со стероидными соединениями — холестерином (a до 1 кюри/ммоль)^{133, 142} и эстрогенами (эстрон, эстриол, эстрадиол; $a \sim 1,5$ кюри/ммоль)^{134, 143} катализируется Pt или Pd, причем лучшие

ТАБЛИЦА 2

Соединения, меченные с помощью гетерогенного катализитического обмена с T_2
в растворе¹³¹ (катализатор — PdO/BaSO_4)*

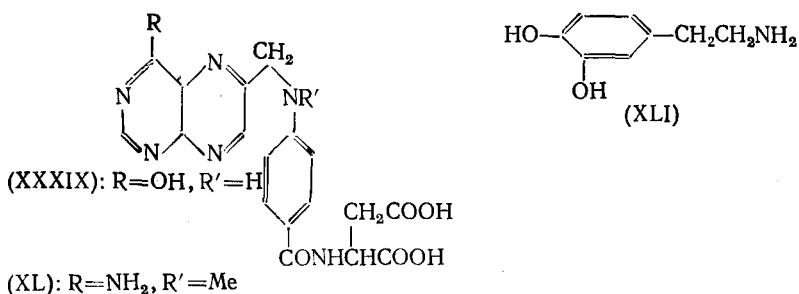
Соединение	pH раствора	Время, час	Выход, мкюри	a , кюри/ммоль
Аденозин	8,2	2	660	11,2
Аденозинмонофосфат	10	16	295	—
Аденозин-3,5-циклофосфат**	10	16	290	26,3
Аденозинтрифосфат	8	16	84	13,0
Дезоксиаденозинтрифосфат	10	16	250	9,6
Инозинмонофосфат	8	0,33	195	4,9
Гуанозинтрифосфат	8,2	0,5	28	1,6
Пуромицин	8	0,5	28	3,75

* 10—30 мг вещества с 4—5-кратным (по весу) избытком катализатора в 1,5—2,5 мл фосфатного буфера (атмосфера 0 кюри T_2).

** В атмосфере 25 кюри T_2 .

результаты получаются при использовании бензоатов в органических растворителях (этилацетат или диоксан) с последующим гидролизом.

Что касается аминокислот, то *L*-фенилаланин очень легко обменивается с T_2 в растворе в присутствии PtO_2^{134} или $PdO/BaSO_4^{131}$. В последнем случае (фосфатный буфер, pH 7, 20°, 1 час) достигнуто значение $a > 1$ кюри/ммоль. Обмен не сопровождается рацемизацией и протекает почти исключительно (более 95%) по бензильной CH_2 -группе (положение 3). В аналогичных условиях удалось получить меченный *L*-аланин с a , равной лишь 10 мкюри/ммоль¹³¹. Этот пример ярко иллюстрирует чрезвычайную легкость обмена бензильных атомов водорода в α -положении, что было подтверждено и в других случаях¹²⁹ и использовано для введения трития в ряд БАВ, содержащих бензильную или аналогичные группы. К таким соединениям относятся, например, фолиевая кислота (XXXIX), в которой после обмена с T_2 (10%-ный $Pd/CaCO_3$, 4 N KOH, ~20°, 1 час, $a = 30-36$ кюри/ммоль) более 60% включенного трития локализуется в положении 9¹⁴⁴, и принадлежащий к классу катехоламинов 2-(3,4-диоксифенил)этиламин (допамин) (XL), в который при обмене с T_2 $PdO/BaSO_4$, фосфатный буфер, ~20°, 2 час, $a \sim 1$ кюри/ммоль¹³¹ тритиевая метка более чем на 90% вводится в положение 2 боковой цепи¹³¹. Интересно отметить, что родственное фолиевой кислоте соединение — препарат метотрексат (XL) содержит в положении 9 только 30% введенного трития (условия обмена те же, что для фолиевой кислоты), — очевидно, из-за пространственных затруднений, вызываемых соседней метильной группой¹⁴⁴.

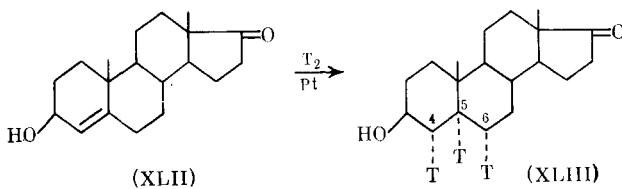


Обладающие сильным антидепрессивным действием 5-(3-метиламино-пропил)- и 5-(3-диметиламинопропил)-10,11-дигидро-5Н-дibenз(d, f)азепины (препараты десипрамин и имипрамин) и 5-(3-метиламинопропилиден)- и 5(3-диметиламинопропилиден)-10,11-дигидро-5Н-дibenз(a, d)цикlopентены (препараты нортриптилин и амитриптилин) обмениваются с T_2 (PdO метанол, ~20°, 45 мин, $a = 45, 15, 2$ и 1,7 кюри/ммоль соответственно) почти исключительно по метиленовой группе, расположенной между двумя ароматическими ядрами¹⁴⁵. Из других меченых лекарственных средств, полученных обменом с T_2 и имеющих высокое значение a , следует отметить *D,L*-пропранол (PdO , диоксан, 4,5 час, выход 37%, $a = 27,3$ кюри/ммоль)¹⁴⁶ и 1-(1-фенилциклогексил)пиперидин (препарат фенциклидин) (PdO , метанол, выход 25%, $a = 4$ кюри/ммоль)¹⁴⁷.

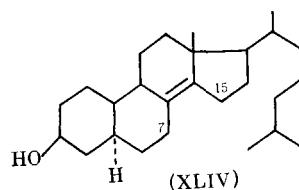
Число биологически активных веществ, которые могут быть выбраны для введения тритиевой метки с помощью обмена с T_2 в растворе, ограничено побочными протекающим восстановлением некоторых групп и насыщением кратных связей. Так, попытка ввести тритий в уридин данным методом ($PdO/BaSO_4$, фосфатный буфер, 1 час) привела только к дигидроуридину-(5,6-T)¹³¹. Однако эти ограничения не являются абсолютно

лютными: например, упоминавшийся выше обмен альдоз не сопровождается восстановлением альдегидной группы. Что касается ненасыщенных соединений, то для них насыщение и изотопный обмен протекают конкурентно и сильно зависят от условий (катализатор, температура). Так, в случае циклогексена в присутствии $\text{Rh}(\text{PPh}_3)_3\text{Cl}$ (гомогенный катализатор) энергия активации для обмена выше, чем для насыщения, и последнее является основным процессом при 30° , однако при 60° легче идет обмен¹⁴⁸.

При изотопном обмене между T_2 и трициклическими антидепрессантами (см. выше) в присутствии Pd (из PdO) степень сохранения двойных связей значительно больше, чем в присутствии PtO_2 или PdO/BaSO_4 . Еще лучшие результаты достигаются, если стадии восстановления PdO до Pd и обмена с антидепрессантами разделены и проводятся последовательно¹⁴⁹. При катализируемом Pt восстановлении 3β -оксиандростен-4-она-17 (XLII) с помощью трития насыщение и изотопный обмен также протекают параллельно: в образовавшемся меченом 3β -оксиандростаноне-17 (XLIII) тритий оказался распределенным между положениями 4α , 5α и 6α в соотношении $37 : 43 : 20$ ¹⁴⁹.



Как и при гетерогенном катализе обмена с растворителем, механизм обмена с газообразным T_2 (или D_2) различен для различных катализаторов (см., например,¹⁵⁰). Для замещенных ароматических соединений, в частности, предполагается хемосорбция на поверхности Pt - и Pd -катализаторов в виде π -комплексов^{151, 152}, тогда как в случае Ni -катализатора более вероятно образование σ, π -комплексов¹⁵³. Механизм обмена с T_2 в водных средах не может считаться окончательно установленным; доказано лишь, что субстрат обменивается непосредственно с T_2 , а не с водой¹³¹. При обсуждении ионного и радикального вариантов этого механизма предпочтение было отдано последнему¹³¹, который предполагает на первой стадии гомолиз связи $\text{C}-\text{H}$ в субстрате RH с образованием промежуточного свободного радикала, адсорбированного на поверхности катализатора. Этот радикал затем взаимодействует с атомами T , получающимися в результате диссоциации T_2 на катализаторе, что и приводит к включению трития в субстрат. Такая схема хорошо согласуется, например, с тем фактом, что холестен-8(14)-ол-3 (XLIV) обменивается с D_2 (Pd -катализатор, спирт) аллильные атомы водорода у $\text{C}(7)$ и $\text{C}(15)$. Очевидно происходит отщепление этих наиболее подвижных атомов с образованием промежуточного π -аллильного комплекса¹⁵².



V. КАТАЛИТИЧЕСКОЕ ДЕГАЛОГЕНИРОВАНИЕ

Методика проведения катализитического дегалогенирования (перемешивание раствора вещества в атмосфере газообразного T_2 в присутствии катализатора) идентична с методом гетерогенного обмена с T_2 (а также и с катализитическим восстановлением с помощью T_2); по существу катализитическое дегалогенирование отличается от обмена тем, что атом T замещает в молекуле субстрата не атом H , а атом галогена. Таким образом, имеет место химическая реакция $(RX + T_2 \rightarrow RT + TX)$, и катализитическое галогенирование является, собственно говоря, одним из синтетических методов получения тритийсодержащих соединений. Однако, как уже указывалось выше, включение этого метода в настоящий обзор оправдано, во-первых, тем, что он является наиболее общим для получения меченых БАВ различных классов, а во-вторых, его очевидной теоретической и практической близостью к обменным методам.

Преимущества метода катализитического дегалогенирования достаточно ясны. Прежде всего он позволяет получать соединения с высоким значением a , в ряде случаев близким к теоретическому (29 кюри/ммоль при полном замещении одного атома галогена на тритий). Очень существенно, что катализитическое дегалогенирование протекает в очень мягких условиях (даже при температурах $\sim 0\text{--}5^\circ$ и давлении $T_2 \sim 150\text{--}200$ мм рт. ст.) и проходит практически до конца за несколько часов. Это объясняется значительно большей термодинамической выгодностью замещения галогена на T по сравнению с замещением H на T и тем, что из-за меньших значений энергий разрыва связи углерод—галоид по сравнению со связью $C—H$ энергия активации дегалогенирования ниже, чем для изотопного обмена H на T . Важным преимуществом является также специфичность введения тритиевой метки, определяемая положением галогена в молекуле исходного галогенсодержащего соединения. Следует, однако, отметить, что побочные реакции — изотопный обмен и насыщение кратных связей — могут нарушать эту специфичность, причем в некоторых (правда, немногочисленных) случаях довольно значительно^{153—155}.

К недостаткам метода можно отнести образование наряду с желаемым меченым соединением тритированных галогенводородов TX , которые являются катализитическими ядами. Для их связывания в раствор добавляют KOH , $NaOH$, NH_3 , Et_3N или $BaSO_4$, что приводит также к смешению равновесия, ускорению дегалогенирования и подавлению побочных реакций. Необходимые исходные галогензамещенные соединения в большинстве случаев достаточно доступны.

Экспериментальные условия катализитического дегалогенирования, как уже упоминалось, почти те же, что и при изотопном обмене с T_2 . Применимые количества T_2 колеблются от нескольких кюри до нескольких десятков кюри при давлении от 100 до 760 мм рт. ст. Круг используемых растворителей весьма широк — водные щелочи, этиловый и метиловый спирты, диоксан, ДМФА и др. (с добавлением к органическим растворителям, если необходимо, воды и перечисленных выше щелочных агентов).

В качестве катализаторов наиболее употребителен Pd (в виде черни или на различных носителях — активированный уголь, $CaCO_3$, $BaSO_4$, Al_2O_3); реже применяют Pt , Ni (катализатор Ренея), Rh , еще реже — Os , Ir , Ru . Рекомендуется применение катализаторов на носителях, так как это увеличивает активную поверхность и уменьшает опасность отравления катализатора. Хорошие результаты получаются при одновременном использовании Pd/C и $Rh/CaCO_3$ или Rh/Al_2O_3 для дегалогенирования

пептидов и белков¹⁵⁵⁻¹⁶¹. Легкость замещения галогена на тритий падает в ряду $I > Br > Cl > F$ в соответствии с увеличением прочности связи углерод — галоген. Поэтому предпочитают исходить из соответствующих иодидов, тем более что иногда даже дебромирование протекает неудовлетворительно¹⁵⁷, хотя, например, 5-бромникотиновая кислота превращается (5%-ный Pd/CaCO₃, тетрагидрофуран, в присутствии BaCO₃, 20°, 8 час) в меченую никотиновую кислоту с выходом 94%¹⁶². Вообще же скорость восстановительного деиодирования в несколько раз больше, чем дебромирования (в ряду галогенбензолов при ~20°, в темноте, без катализатора — в 5,5 раз)¹⁶³ и еще значительнее превосходит скорости дехлорирования и дефтормирования. Таким образом, гомолитический разрыв связи углерод — галоген является лимитирующей стадией реакции, и благодаря этому в ряде случаев удается осуществить селективное введение Т в полигалогенные соединения¹⁶³⁻¹⁶⁵.

Хотя каталитическое дегалогенирование с успехом применяется для введения тритиевой метки практически во все классы БАВ, наиболее ценным этот метод является при получении меченых аминокислот, пептидов и белков, нуклеотидов, нуклеозидов и нуклеиновых оснований. Каталитическое дегалогенирование является основным методом получения всех ароматических аминокислот, специфично меченных по ароматическому ядру и имеющих высокое значение *a* (см. табл. 3). Во всех случаях дегалогенирование не сопровождается рацемизацией и приводит к соединениям высокой радиохимической чистоты. При гидрогенизации в атмосфере чистого T₂ получены аминокислоты с высокими значениями *a* (например, 14 кюри/ммоль для *L*-тирозина-(3-T)^{166, 168}; в других случаях^{167, 170} использовали смесь T₂ и H₂).

Таким же способом галоген может быть замещен на тритий не только в самих ароматических аминокислотах, но и в их остатках, входящих в состав пептидов и белков. Интерес исследователей был сконцентрирован преимущественно на меченых пептидных гормонах (окситоцин, вазопрессин, ангиотензин II, кортикотропин, α -меланотропин) и их аналогах, для которых удалось достичь значений *a* порядка нескольких десятков кюри/ммоль. Результаты приведены в табл. 4, из которой видно, что метод пригоден для молекул пептидов различной величины (от 3 до 61 аминокислотного остатка). Во всех случаях дегалогенирование проводилось при комнатной температуре, причем почти все перечисленные в табл. 4 меченные соединения пептидно-белковой природы получены из иодсодержащих предшественников, т. е. пептидов, в состав которых входили 3,5-диiodтирозин или 4-иодфенилаланин. Исключения составляют лишь №№ 3—6, для получения которых использовали бромированные (содержащие 3,5-дibромтирозин) или хлорированные (содержащие 4-хлорфенилаланин) предшественники. В одном случае (№ 12) дегалогенированию подвергали не галогенный аналог меченого пептида, а ацетамино-*D*-аланил-(4-амино-3,5-диiod)-*L*-фенилаланин, и полученный тритийсодержащий дипептид превращали в меченный аналог α -меланотропина на обычными методами пептидного синтеза.

Введение галогена в исходные галогенпептиды осуществляется различными способами. Пептидный синтез позволяет получать исходя из галогенаминокислоты галогенпептиды с точно известным фиксированным положением галогена. Потребность в такого рода галогенпептидах стимулировала разработку пептидных синтезов с 3,5-диод-*L*-тирозином¹⁷⁸. Другой способ заключается в обработке пептида (или одного из его синтетических предшественников) I₂ в смеси хлороформ — метанол — вода (иодирование тирозиновых остатков в положения 3 и 5 бензольного

ТАБЛИЦА 3

Меченные аминокислоты, полученные методом катализитического дегалогенирования

Аминокислота	Исходное галогенсодержащее соединение	Катализатор	Среда	Химический выход, %	Ссылки
L-Фенилаланин-(2,4-Т)	L-2,4-дигромфенилаланин	Pd/CaCO ₃	водный этанол	90—100	166
3,4-Диоксифенилаланин-(2,5,6-Т)	метиловый эфир 2,5,6-трибром-0,0',N-триацетил-3,4-диоксифенилаланина	Pd/C	диоксан (Et ₃ N)	54	167
3,4-Диоксифенилаланин-(2,5,6-Т)	2,5,6-трибром-3,4-диоксифенилаланин	Pd/CaCO ₃	водный этанол (KOH)	90—100	166
3,4-Диоксифенилаланин-(6-Т)	метиловый эфир 6-бром-0,0',N-триацетил-3,4-диоксифенилаланина	Pd/C	диоксан (Et ₃ N)	72	167
L-Тирозин-(3-Т)	3-иод-L-тироzin	10%-ный Pd/C	водный метанол (KOH)	около 90	168
L-Тирозин-(3-Т)	3-иод-L-тироzin	Pd/CaCO ₃	водный этанол	90—100	166
L-Тирозин-(3,5-Т)	3,5-дииод-L-тироzin	Pd/CaCO ₃	водный этанол	90—100	166
L-Тирозин-(3,5-Т)	3,5-дииод-L-тироzin	Ni Ренея	вода (NaOH)	90—100	169
L-Тиронин-(3,5-Т)	3,5-дииод-L-тироzin	Ni Ренея	вода (NaOH)	—	169
DL-Триптофан-(5-Т)	5-бром-DL-триптофан	10%-ный Pd/C	вода (KOH)	—	170
DL-Триптофан-(5-Т)	5-бром-DL-триптофан	Pd/CaCO ₃	водный этанол	90—100	166
DL-Триптофан-(4-Т)	4-хлор-DL-триптофан	10%-ный Pd/C	вода (KOH)	—	170
L-Гистидин-(2,5-Т)	2,5-дииод-L-гистидин	Pd/CaCO ₃	водный этанол (KOH)	—	166

ядра) ¹⁷⁶ или хлористым иодом, который в зависимости от условий иодирует ядро тирозина или боковую цепь гистидина ¹⁵⁹.

Весьма широко (особенно в последнее время) метод катализитического дегалогенирования используется для получения меченых тритием нуклеиновых оснований, нуклеозидов и их монофосфатов. В основания метка вводится как в различные положения ядра (чаще всего с помощью дебромирования), так и в метильную группу (с помощью дехлорирования); для полученных соединений величина *a* колеблется в пределах 5—25 кюри/ммоль (см. табл. 5).

Несмотря на то, что превращение меченых оснований в меченные нуклеозиды и их фосфаты не вызывает серьезных трудностей, последние часто предпочитают получать непосредственно, в результате катализитического дегалогенирования соответствующих бромсоединений. При этом применяют, как правило, те же катализаторы (Pd/BaSO₄, Pd/C), а в качестве растворителя — чаще всего водные растворы щелочей, и достигают тех же значений *a* (5—25 кюри/ммоль). Таким способом получены аденоzin-(8-Т) ^{179, 188—190}, гуанозин-(8-Т) ^{189, 190}, инозин-(8-Т) ¹⁸⁹, уридин-(5-Т) ^{179—181}, 2-дезоксиуридин-(5-Т) ^{179, 180}, цитидин-(5-Т) ¹⁸¹, аденоzinмонофосфат-(8-Т) ^{170, 191, 192}, аденоzinциклофосфат-(8-Т) ^{179, 193}, уридинмонофосфат-(5-Т) ¹⁷⁹; однако выходы не превышают 50—60% из-за пониженной реакционной способности исходных бромсодержащих соединений. Последняя, по-видимому, определяется существованием в растворе вторичной структуры, стабилизированной внутримолекулярными силами ¹⁷⁹. Ослабление этой стабилизации увеличивает как выход, так и величину *a* получающихся меченых нуклеозидов и нуклеозидфосфатов.

ТАБЛИЦА 4

Меченные пептиды и белки, полученные методом катализитического дегалогенирования

№ п.п.	Вещество	<i>n</i> *	Меченный аминокислотный остаток	Катализатор	Среда	Выход, %	<i>a</i> , кюри/ ммоль	Ссылки
1	Тиролиберин (рилизинг-фактор тиротропина)	3	гистидин	Pd/Al ₂ O ₃	фосфатный буфер (pH 7,3)	—	60	171
2	Ангиотензин II	8	тироzin	5%-ный Pd/CaCO ₃	фосфатный буфер	—	56,3	172
3	(Аспаргин ¹ , валин ⁵)-ангиотензин II	8	тироzin-(3,5-T)	10%-ный Pd/C	водный ДМФА (Et ₃ N)	—	2—3	173
4	(Лизин ⁸ , дезглициниамид)-вазопрессин	8	тироzin ² -(3,5-T)	Pd/Al ₂ O ₃	уксусная кислота	—	—	174
5	(Лизин ⁸)-вазопрессин	9	тироzin ² -(3,5-T)	Pd/Al ₂ O ₃	уксусная кислота	—	12	174
6	(Лизин ⁸)-вазопрессин	9	фенилаланин ³ -(4-T)	Pd/Al ₂ O ₃	уксусная кислота	—	—	174
7	(Лизин ⁸)-вазопрессин	9	тироzin ² -(3,5-T)	10%-ный Pd/Al ₂ O ₃	фосфатный буфер	—	10	175
8	(Лизин ⁸)-вазопрессин	9	тироzin-(3,5-T)	5%-ный Pd/CaCO ₃	водный метанол	—	25	176
9	(Аргинин ⁸)-вазопрессин	9	тироzin-(3,5-T)	5%-ный Pd/CaCO ₃	водный метанол	—	17	176
10	Окситоцин	9	тироzin-(3,5-T)	5%-ный Pd/CaCO ₃	метанол-этилацетат (1:1)	—	20	176
11	Окситоцин	9	тироzin **	Pd/CaCO ₃	фосфатный буфер (pH 6,4)	—	35	177
12	(D-Аланин ¹ , 4-азидо-L-фенилаланин ⁷ , норвалин ⁴)- α -меланотропин	13	4-азидофенилаланин-(3,5-T)	Pd/Cc Rh/CaCO ₃	—	—	11	160
13	(N-бромацетил-D-аланин ¹ , глицин ³ , норвалин ⁴)- α -меланотропин	13	тироzin ² -(3,5-T)	5%-ный Pd/C с 5%-ным Rh/CaCO ₃	ДМФА	76	11—20	161
14	(N-диацетилглицин ¹ , норвалин ⁴)- α -меланотропин	13	тироzin ² -(3,5-T)	то же	ДМФА	81	21—36	161
15	(D-серин ¹ , лизин ^{17, 18})- β -кортикотропин-(1—18)-октадекапептид	18	тироzin ² -(3,5-T)	»	ДМФА	57	17	156
16	β -Кортикотропин-(1-24)-тетракозапептид (тетракозактрин, синактен)	24	тироzin ² -(3,5-T)	»	ДМФА	42	29	156
17	β -Кортикотропин-(1-24)-тетракозапептид	24	тироzin ²³ -(3,5-T)	»	ДМФА	20	46	155
18	β -Кортикотропин-(1-24)-тетракозапептид	24	фенилаланин ⁷ -(4-T)	»	ДМФА	18	27	157
19	Кортикотропин человека	39	тироzin ²³ -(3,5-T)	»	ДМФА	30	25	158
20	α -Нейротоксин из <i>Naja nigricollis</i>	61	гистидин	Pd—Rh/Al ₂ O ₃	фосфатный буфер (pH 7)	—	14	159

* Здесь *n* — число аминокислотных остатков.

** Предположительно.

Введение трития в биологически активные соединения

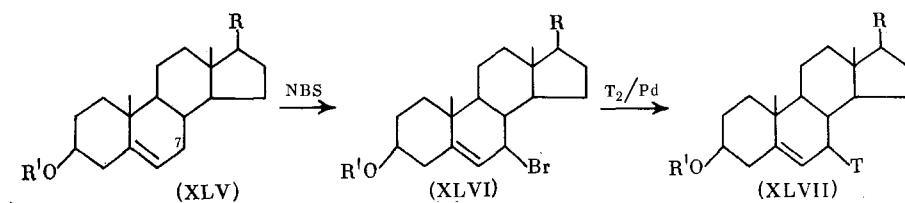
ТАБЛИЦА 5
Меченные нуклеиновые основания и их аналоги, полученные методом
катализитического дегалогенирования

Меченое соединение	Исходное соединение	Катализатор	Среда	Выход, %	α , кюри/ммоль	Ссылки
Урацил-(5-T)	5-бромурацил	Pd/BaSO ₄	водный KOH	95—100	20—24	179
Урацил-(5-T)	5-иодурацил	Pt-чернь	водный KOH	—	25	180
Урацил-(5-T)	5-иодурацил	5%-ный Pd/BaSO ₄	водный KOH	—	20	181
Урацил-(6-T)	6-бром-2,4-диметоксициримидин	5%-ный Pd/BaSO ₄	уксусный ангидрид	—	5—25	182
Цитозин-(5-T)	5-иодцитозин	5%-ный Pd/BaSO ₄	водный KOH	—	—	181
Тимин-(метил-T)	5-(хлорметил)урацил	10%-ный Pd/BaSO ₄	диоксан	70	15	154
Тимин-(метил-T)	5-(оксиметил)урацил	5%-ный Pd/BaSO ₄	водная уксусная кислота	77	15	154
5-Этилурацил-(4-T)	4-хлор-5-этилурацил	Pd/C	водно-метанольный NaOH	85	—	183
5-Метилцитозин-(метил-T)	5-(хлорметил)цитозин	PdO	диметилацетамид	—	8	184
2,3-Дигидро-1,3-оксазиндион-2,6-(5-T)*	5-бром-2,3-дигидро-1,3-оксазиндион-2,6	5%-ный Pd/BaSO ₄	этанол	64	11	185
Аденин-(8-T)	8-бромаденин	Pd-чернь	ДМФА	85—90	15	186, 187

* Синоним — 3-оксаурацил-(5-T).

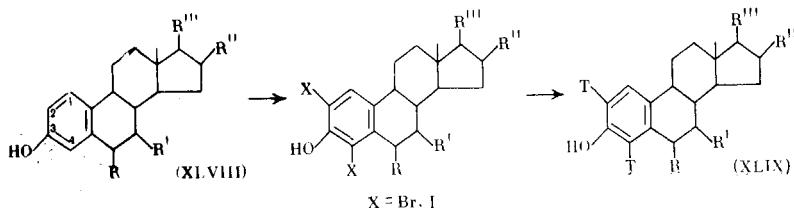
Для перевода меченых монофосфатов в меченные трифосфаты используют энзиматическое фосфорилирование. Как и в случае пептидов, производство тритийсодержащих нуклеозидфосфатов стимулировало разработку методов получения монофосфатов соответствующих бромнуклеозидов¹⁹⁴.

Для стероидов метод катализитического дегалогенирования представляет особую ценность, так как дает возможность вводить тритиевую метку не только в определенное положение и с сохранением Δ -связи, но и стереоспецифично. Поскольку стериоиды типа (XLV) бромируются N-бромууксусным иодом (NBS) исключительно в положение 7α , дегидробромирование получающихся бромстериоидов (XLVI) с применением Pd/C или Pd/CaCO₃ приводит к 7α -меченным стериодам (XLVII). Этим методом получены холестерин-(7 α -T), прегненолон-(7 α -T), дегидроэпиандростерон-(7 α -T)^{195—198} с выходами >90% и $\alpha \sim 10$ кюри/ммоль¹⁹⁸.



Стериоиды с ароматическим кольцом A (XLVIII), в частности производные эстрадиола, легко бромируются (N-бромууксусный иод) или иодируются (I₂ в водном метаноле) в положения 2 и 4, что позволяет затем с помощью катализитического дегалогенирования получать стериоидные соединения (XLIX), меченные тритием в этих положениях — эстрадиол-(2,4-T) (скелетный Ni, водный NaOH)¹⁶⁹, эстриол-(2,4-T) (катализа-

тор — Pd/C)¹⁹⁹, 16-кетоэстрадиол-(2,4-Т)²⁰⁰, изомерные эстратриен-1,3,5(10)-олы-(2,4-Т) (5%-ный Pd/Al₂O₃, этилацетат, *a*-15-28 кюри/ммоль²⁰¹). С помощью дебромирования (катализатор — Pd/C) осуществлено также введение трития в положение 16 молекулы 3 α , 17 α -диокси-прегнана²⁰².



В качестве примеров приложения метода катализитического дегалогенирования для полученных меченых БАВ других типов следует упомянуть витамин К, меченный в положении 6 нафтохинонового ядра (он получен из 2-метил-6-бромнафтохинона с последующими синтетическими стадиями, Pd/C, водно-спиртовый NaOH, 5°) ²⁰³; α -токоферол-(5-метил-T) (из 5-хлорметил- α -токоферола, катализатор Pd/C) ²⁰⁴; антибиотик тетрациклин-(7-T) (из 7-хлортетрациклина, Pd/C, диоксан, в присутствии трибутиламина, $a=5$ кюри/ммоль) ²⁰⁵; алкалоиды папаверин (из 6'-бромпапаверина, 10%-ный Pd/C, диоксан с Et₃N, $a=43$ кюри/ммоль; дегалогенирование сопровождается обменом в метоксильных группах) ¹⁵³ и О-бензоилэкгонин-(бензоил-2-T) (получен из О-(2-иодбензоил)экгонина, катализатор Pd/C, $a=21$ мкюри/мг) ²⁰⁶; канцерогенный полициклический ароматический углеводород 7,8-дibenzoилокси-7,8,9,10-тетрагидробенз(а)пирен, неопределен меченный по ядру пирена, получен из смеси соответствующих бромпиренов (Pd-чернь, диоксан с Et₃N, $a=1,25$ кюри/ммоль) ²⁰⁷, обладающий гипотензивным действием N-(имидазолидинилиден-2)-2,6-дихлоранилин-(4-T) — препарат клонидин (из соответствующего 4-бромпроизводного, Pd/C, тетрагидрофуран, $a=1,6$ кюри/ммоль) ¹⁶⁵ и сердечные препараты практол и изэпрактол (из 3,5-дибром-4-оксияцетанилида с последующими синтетическими стадиями, 10%-ный Pd/C, метанол с Et₃N, выход 86%, $a=20$ кюри/ммоль) ²⁰⁸.

В заключение необходимо отметить, что катализитическое дегалогенирование не является единственным методом замещения галогена на трий. Для этой цели в разные годы рекомендованы восстановление амальгамой натрия в НТО²⁰⁹, восстановление Zn и CH₃COOT в эфире (на примере превращения 17 α -бромпрегненолона в прегненолон-(17 α -T)²¹⁰, восстановление сплавом Zn—Cu в органических растворителях в присутствии НТО (на примере введениядейтерия в положение 3 экзо-камфоры, исходя из 3-бромкамфоры)²¹¹, электрохимическое восстановление в среде НТО (на примере получения урацила-(5-T) и дезоксиурацила(5-T) из соответствующих 5-бромпроизводных)^{212, 213} и, наконец, простое нагревание некоторых 5-иодпirimидинов (оротовая кислота, урацил, цитозин и их производные) в диметилсульфоксиде, содержащем 5% НТО²¹⁴. Однако во всех перечисленных случаях величина *a* полученных препаратов была значительно ниже, чем при катализитическом дегалогенировании.

ЛИТЕРАТУРА

1. Э. Эванс, Тритий и его соединения, Атомиздат, М., 1970.
 2. J. Filip, F. Vyšata, J. Labelled Compounds, 5, 295 (1969).
 3. И. Филип, Ф. Вышата, в сб. Новые методы получения радиоактивных препаратов, Варшава, 1969, стр. 325.

4. J. Filip, F. Vyšata, Radioisotopy, 10, 93 (1969).
5. Нат. ЧССР 137649 (1970); С. А., 75, 110330 (1971).
6. J. Moravek, J. Filip, Coll. Czech. Chem. Commun., 25, 2697 (1960).
7. C. Parkanyi, F. Šorm, Там же, 28, 2491 (1963).
8. J. W. Thanassi, J. Org. Chem., 36, 3019 (1971).
9. Л. А. Остерман, В. В. Адлер, Р. Ш. Бибилашвили, Вопр. мед. химии, 13, 200 (1967).
10. K. R. Shelton, J. M. Clark, Biochemistry, 6, 2735 (1967).
11. K. R. Shelton, J. M. Clark, Biochem. Biophys. Res. Commun., 33, 850 (1968).
12. U. Lauschke, E. Lodemann, A. Wacker, J. Labelled Compounds, 7, 441 (1971).
13. Г. В. Сидоров, Н. Ф. Мясоедов, Радиохимия, 16, 922 (1974).
14. J. A. Elwidge, J. R. Jones, C. O'Brien, E. A. Evans, Chem. Commun., 1971, 394.
15. R. N. Maslova, E. A. Lesnik, Ya. M. Varshavsky, FEBS Letters, 49, 181 (1974).
16. Ja. M. Varshavsky, E. A. Lesnik, R. N. Maslova, Prepr. Int. Symp. on Macromolecules, v. 4, Helsinki, 1972, p. 441.
17. R. G. Gamble, H. J. P. Schoemaker, E. Jekowsky, P. R. Schimmel, Biochemistry, 15, 2791 (1976).
18. H. J. P. Schoemaker, R. G. Gamble, G. P. Budzik, P. R. Schimmel, Там же, 15, 2800 (1976).
19. Р. Н. Маслова, Е. А. Лесник, Я. М. Варшавский, Мол. биол., 9, 310 (1975).
20. M. Tomasz, J. Olson, C. M. Mercado, Biochemistry, 11, 1235 (1972).
21. V. Valenta, J. Filip, Radioisotopy, 18, 313 (1977).
22. D. Lichtenberg, F. Bergmann, J. Chem. Soc., Perkin Trans. I, 1973, 789.
23. M. Lajunen, H. Pilbacka, Acta Chem. Scand., 30A, 391 (1976).
24. P. D. Klein, J. C. Knight, J. Am. Chem. Soc., 87, 2657 (1965).
25. J. C. Knight, P. D. Klein, P. A. Szczepanik, J. Biol. Chem., 241, 1502 (1966).
26. R. Bovara, R. Longhi, F. Nicotra, G. Vecchio, J. Labelled Compounds, 13, 425 (1977).
27. L. Szilágyi, P. Herzegh, G. Bujtaš, Naturforsch., 32B, 296 (1977).
28. Д. Муравский, в сб. Органические соединения, меченные радиоактивными изотопами, Прага, 1977, стр. 120.
29. M. Levitz, J. Katz, Steroids, 5, 11 (1965).
30. H. M. McIlhenny, J. Labelled Compounds, 12, 523 (1976).
31. A. P. Tulloch, Lipids, 12, 92 (1977).
32. L. D. C. Boc, H. J. van der Linde, Z. phys. Chem., 41, 59 (1964).
33. G. Pattenden, R. Storer, J. Labelled Compounds, 12, 551 (1976).
34. J.-C. Bonnaous, L. Fonzes, M. Mousseron-Canet, Bull. soc. chim. France, 1971, 4552.
35. D. J. Bennett, G. W. Kirby, V. A. Moss, J. Chem. Soc., C, 1970, 2049.
36. G. A. Junk, H. J. Svec, J. Org. Chem., 29, 944 (1964).
37. J. L. Morrison, Canad. J. Chem., 42, 1009 (1964).
38. D. Balasubramanian, J. Am. Chem. Soc., 89, 5445 (1967).
39. G. Ronca, L. Willumsen, C. r. trav. Lbt. Carlsberg, 38, 59 (1970).
40. C. Fini, A. Floridi, Ital. J. Biochem., 28, 217 (1974).
41. R. Jeffries, J. Polymer Sci., 2A, 5161 (1964).
42. I. M. Klotz, B. H. Frank, J. Am. Chem. Soc., 86, 3889 (1964).
43. Y. Kakuda, N. Perry, D. D. Mueller, Там же, 93, 5992 (1971).
44. M. S. Miller, I. M. Klotz, Там же, 95, 5964 (1973).
45. M. S. E. Saleh, S. R. Srinivasan, Ann. chim., 59, 1013 (1969).
46. Н. Н. Зацепина, И. Ф. Тупицын, в сб. Органические соединения, меченные радиоактивными изотопами, Прага, 1977, стр. 195.
47. G. W. Kirby, L. Ogunkoya, J. Chem. Soc., 1965, 6914.
48. D. H. R. Barton, G. W. Kirby, W. Steglich, G. M. Thomas, A. R. Battersby, T. A. Dobson, H. Ramuz, Там же, 1965, 2423.
49. D. H. R. Barton, D. S. Bhakuni, G. M. Chapman, G. W. Kirby, J. Chem. Soc., C, 1967, 2134.
50. D. H. R. Barton, D. S. Bhakuni, G. M. Chapman, G. W. Kirby, Там же, C, 1967, 1295.
51. K. Bloss, J. Labelled Compounds, 5, 355 (1969).
52. N. Frank, Naturforsch., 32B, 240 (1977).
53. Н. Н. Зацепина, И. Ф. Тупицын, Л. С. Эфрос, ДАН СССР, 154, 148 (1964).
54. B. C. Challis, E. M. Millar, J. Chem. Soc., Perkin Trans. II, 1972, 1111.
55. B. C. Challis, E. M. Millar, Там же, 1972, 1265.
56. L. Burrish, B. Tanacz, J. Marton, Radioisotopy, 12, 575 (1971).
57. P. M. Yavorsky, E. Gorin, J. Am. Chem. Soc., 84, 1071 (1962).
58. A. Kolodziejzyk, A. Arendt, Roczn. chem., 51, 659 (1977).
59. I. Ishiguro, B. Linzen, Z. physiol. Chem., 340, 286 (1965).
60. G. W. Kirby, S. W. Shah, M. Sandler, Chem. Commun., 1967, 819.
61. J. W. Daly, B. Witkop, J. Am. Chem. Soc., 89, 1032 (1967).

62. B. Bak, C. Dambmann, F. Nicolaisen, *Acta Chem. Scand.*, **21**, 1674 (1967).
63. R. S. Hsi, *J. Labelled Compounds*, **12**, 601 (1976).
64. J. L. Longbridge, F. A. Long, *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 1287 (1967).
65. J. L. Longbridge, F. A. Long, Там же, **89**, 1292 (1967).
66. B. S. Challis, E. M. Millar, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, **1972**, 1618.
67. А. Н. Сидоров, Оптика и спектроскопия, **15**, 834 (1963).
68. J. B. Paine, D. Dolphin, *J. Am. Chem. Soc.*, **93**, 4080 (1971).
69. J. L. Garnett, B. Halpern, R. S. Kenyon, *Chem. Commununs*, **1972**, 135.
70. Г. Г. Гусев, Ю. М. Каныстин, В. В. Иванов, М. М. Москвина, в сб. Производство изотопов, Атомиздат, М., 1973, стр. 165.
71. D. Kessel, M. Lubin, *Biochemistry*, **4**, 561 (1965).
72. A. T. Phillips, W. A. Wood, *J. Biol. Chem.*, **240**, 4703 (1965).
73. A. A. Plentl, W. T. Kelly, *Analyt. Biochem.*, **17**, 397 (1966).
74. M. C. Hochreiter, K. A. Schellenberg, *J. Labelled Compounds*, **5**, 270 (1969).
75. D. A. Upson, V. J. Hruby, *J. Org. Chem.*, **42**, 2329 (1977).
76. A. Telc, B. Brunfelter, T. Gosztonyi, *J. Labelled Compounds*, **8**, 13 (1972).
77. B. D. Hilton, R. D. O'Brien, *J. Agr. Food Chem.*, **12**, 236 (1964).
78. N. Seiler, G. Werner, K.-H. Schmidt, *J. Labelled Compounds*, **1**, 306 (1965).
79. U. Matsumoto, K. Shimada, M. Ikeda, I. Hayawaka, Y. Nagase, *Chem. Pharm. Bull.*, **25**, 2195 (1977).
80. T. Gosztonyi, G. Bondesson, K. E. Domeij, N. E. Stjernstrom, *J. Labelled Compounds*, **14**, 231 (1978).
81. T. Gosztonyi, J. Marton, A. Kovacs, *Nature*, **208**, 381 (1965).
82. H. Emmerich, P. Schmitalek, *Naturforsch.*, **21B**, 855 (1966).
83. C. Mantescu, A. Genunche, A. T. Balaban, *J. Labelled Compounds*, **2**, 261 (1966).
84. M. A. Long, J. L. Garnett, R. F. W. Wining, T. A. Mole, *J. Am. Chem. Soc.*, **94**, 8632 (1972).
85. M. A. Long, J. L. Garnett, R. F. W. Wining, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, **1975**, 1298.
86. M. A. Long, J. L. Garnett, R. F. W. Wining, *Tetrahedron Letters*, **1976**, 4531.
87. J. Seibles, D. M. Bollinger, M. Orchin, *Angew. Chem.*, **89**, 667 (1977).
88. М. Г. Кузьмин, Б. М. Ужинов, Г. Сентдъерди, И. В. Березин, *Ж. физ. химии*, **41**, 769 (1967).
89. V. Gold, M. A. Major, M. J. Gregory, *J. Chem. Soc., Faraday Trans. I*, **1974**, 965.
90. V. Gold, M. A. Major, Там же, **1974**, 977.
91. W. J. Spillane, *Tetrahedron*, **31**, 495 (1975).
92. M. Yoshida, H. Kaneko, A. Kitamura, T. Ito, K. Oohashi, N. Morikawa, H. Sakuragi, K. Tokumaru, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **49**, 1697 (1976).
93. M. Colossimo, J. P. Garvey, V. Gold, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, **1975**, 1595.
94. Франц. пат. 7439686 (1975); РЖБХ, **1977**, 13Ф70.
95. D. H. T. Fong, C. L. Bodkin, M. A. Long, J. L. Garnett, *Austral. J. Chem.*, **28**, 1981 (1975).
96. M. A. Long, J. L. Garnett, C. P. Meakin, *J. Labelled Compounds*, **14**, 69 (1978).
97. J. L. Garnett, R. J. Hodges, *Chem. Commununs*, **1967**, 1001.
98. J. L. Garnett, R. J. Hodges, Там же, **1967**, 1220.
99. J. L. Garnett, R. J. Hodges, *J. Am. Chem. Soc.*, **89**, 4546 (1967).
100. L. Blackett, V. Gold, D. M. E. Reuben, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. II*, **1974**, 1869.
101. V. Gold, E. S. Gould, D. M. E. Reuben, Там же, **1974**, 1873.
102. J. L. Garnett, J. H. O'Keefe, P. J. Claringbold, *Tetrahedron Letters*, **1968**, 2687.
103. G. A. LePage, I. G. Junga, *Canad. J. Chem.*, **43**, 1279 (1965).
104. З. А. Эванс, Третий и его соединения, Атомиздат, М., 1970, стр. 103.
105. E. A. Evans, Tritium and Its Compounds, Butterworths, London, 1974, p. 300.
106. G. E. Galf, J. L. Garnett, V. A. Pikles, *Austral. J. Chem.*, **21**, 961 (1968).
107. G. E. Galf, J. L. Garnett, Там же, **21**, 1221 (1968).
108. G. E. Galf, J. L. Garnett, *Chem. Commununs*, **1967**, 306.
109. H. J. Koch, R. S. Stuart, *Carbohyd. Res.*, **59**, C1 (1977).
110. В. А. Шалыгин, Ю. Н. Писарев, Я. Д. Зельвенский, в сб. Производство изотопов Атомиздат, М., 1973, стр. 190.
111. F. Schlegelmilch, H. Schildknecht, Symposium über Zonenschmelzen und Kolonnenkristallisieren, Karlsruhe, 1963, S. 437.
112. C. M. Fernandez, J. L. Garnett, *J. Labelled Compounds*, **3**, 155 (1967).
113. K. V. Viswanathan, O. M. G. Nair, R. Lakshmy, Å. U. Garana, Proc. Symp. on Nuclear and Radiation Chemistry, Poona, 1967, p. 280.
114. I. Pri-Bar, O. Buchman, *Chem. Commununs*, **1970**, 1631.
115. G. E. Galf, J. L. Garnett, B. H. Halpern, K. Turnbull, *Nature*, **209**, 502 (1966).
116. R. S. Norton, J. H. Bradbury, *J. Catalysis*, **39**, 53 (1975).
117. M. Noyer, A. G. Schnek, J. Leonis, *Arch. int. physiol. et biochem.*, **83**, 391 (1975).
118. F. C. Chang, F. S. Chu, *J. Labelled Compounds*, **12**, 231 (1975).
119. D. G. Crowter, E. A. Evans, R. W. Lambert, *Chem. Ind.*, **1960**, 899.

120. M. C. Clifford, E. A. Evans, A. E. Kitner, D. C. Warrell, *J. Labelled Compounds*, **11**, 435 (1975).
121. T. Ito, M. Tatara, Y. Kasida, *Int. J. Radiat. Isotop.*, **24**, 81 (1973).
122. C. G. Macdonald, J. S. Shannon, *Tetrahedron Letters*, **1963**, 1349.
123. J. L. Garnett, W. A. Sollich, *J. Catalysis*, **2**, 339 (1963).
124. J. L. Garnett, W. A. Sollich-Baumgartner, *J. Phys. Chem.*, **68**, 3177 (1964).
125. J. L. Garnett, W. A. Sollich-Baumgartner, *Там же*, **69**, 3526 (1965).
126. M. Frangopol, *Isotop. Radiation Technol.*, **9**, 447 (1972).
127. S. Noll, M. Kiessling, K.-H. Heise, *Isotopenpraxis*, **13**, 324 (1977).
128. К. С. Михайлов, О. В. Лавров, Н. Ф. Мясоедов, в сб. *Органические соединения, меченные радиоактивными изотопами*, Прага, 1977, стр. 253.
129. I. Pri-Bar, O. Buchman, *Int. J. Appl. Radiation Isotopes*, **27**, 53 (1976).
130. M. Angoso Marino, F. Kaiser Ruiz del Olmo, Junta Energ. Nucl. (Spain), (Rep.), **1977**, 383; С. А., **88**, 190261 (1978).
131. E. A. Evans, H. C. Sheppard, J. C. Turner, D. C. Warrell, *J. Labelled Compounds*, **10**, 569 (1974).
132. J. Marton, A. Kovacs, *Radioisotopy*, **12**, 595 (1971).
133. J. Roemer, U. Preiss, H. Wagner, *Radiochim. Radioanal. Letters*, **30**, 123 (1977).
134. O. Buchman, I. Pri-Bar, M. Shimoni, L. Smoskowitz, *J. Labelled Compounds*, **10**, 345 (1974).
135. D. Zidarov, A. Andreyev, N. Neshev, D. Shopov, *Докл. Болг. АН*, **29**, 845 (1976).
136. G. D. Kuehn, *J. Labelled Compounds*, **9**, 171 (1973).
137. R. Cardinaud, J.-C. Bouchet, *Bull. soc. chim. France*, **1965**, 834.
138. M. Guillaume, *Bull. Soc. roy. sci. Liege*, **36**, 696 (1967).
139. T. Deguchi, S. Okumura, A. Ishii, M. Tanaka, *J. Antibiot.*, **30**, 993 (1977).
140. G. H. Barlow, E. V. Cardinal, *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **123**, 831 (1966).
141. A. Poulos, A. C. Pollard, *J. Labelled Compounds*, **14**, 17 (1978).
142. И. Ф. Тупицын, Т. В. Бичуль, В. И. Бернотас, Г. Г. Гусев, Н. Н. Зацепина, Б. А. Климашевская, Н. С. Пигорева, Г. П. Прокофьева, С. В. Чиняков, в сб. *Производство изотопов*, Атомиздат, М., 1973, стр. 158.
143. J. H. Block, C. Djerassi, *Steroids*, **22**, 591 (1973).
144. S. F. Zakrzewski, E. A. Evans, R. F. Phillips, *Analyt. Biochem.*, **36**, 197 (1970).
145. O. Buchman, I. Pri-Bar, *J. Labelled Compounds*, **14**, 263 (1978).
146. O. Buchman, I. Pri-Bar, Y. Hagag, *Там же*, **10**, 519 (1974).
147. A. Kalir, D. Balderman, M. Torten, O. Buchman, I. Pri-Bar, *Там же*, **13**, 445 (1977).
148. A. L. Odell, J. B. Richardson, W. R. Roper, *J. Catalysis*, **8**, 393 (1967).
149. Y. J. Abulhaji, *J. Labelled Compounds*, **7**, 33 (1971).
150. Е. С. Рудаков, А. Е. Шилов, А. А. Штейнман, в сб. *Роль координации в катализе*, «Наукова думка», Киев, 1976, стр. 142.
151. T. Meshi, Y. Sato, *Bull. Chem. Soc. Japan*, **37**, 683 (1964).
152. V. Ku, J. Palmer, S. Siegel, R. Clough, *J. Catalysis*, **44**, 449 (1976).
153. J. Devillers, M. Winand, B. Bettens, *J. Labelled Compounds*, **12**, 219 (1976).
154. Б. Богачек, И. Филип, в сб. *Органические соединения, меченные радиоактивными изотопами*, Прага, 1977, стр. 29.
155. D. E. Brundish, R. Wade, *J. Chem. Soc., Perkin Trans. I*, **1973**, 2875.
156. D. E. Brundish, J. R. Martin, R. Wade, *Там же*, **1976**, 2182.
157. D. E. Brundish, R. Wade, *Там же*, **1976**, 2186.
158. D. E. Brundish, R. Wade, *Biochem. J.*, **165**, 169 (1977).
159. A. Menez, J. L. Morgat, P. Fromageot, A.-M. Ronseray, P. Boquet, J.-P. Chaugeux, *FEBS Letters*, **17**, 333 (1971).
160. A. Eberle, R. Schwyzer, *Helv. chim. Acta*, **59**, 2421 (1976).
161. A. Eberle, W. Hubscher, R. Schwyzer, *Там же*, **60**, 2895 (1977).
162. B. R. Clark, *J. Labelled Compounds*, **12**, 535 (1976).
163. Y. Wu, H. J. Ache, *J. Phys. Chem.*, **73**, 2424 (1969).
164. T. Hesselbo, *Int. J. Appl. Radiat. Isotop.*, **16**, 329 (1965).
165. M. Stiasni, H. Stahle, *J. Labelled Compounds*, **14**, 51 (1978).
166. L. Birkofe, K. Hempel, *Chem. Ber.*, **96**, 1373 (1963).
167. E. Schreier, W. Pacha, J. Rutschmann, *Helv. chim. Acta*, **46**, 954 (1963).
168. L. Carlsson, I. Sjoholm, *Acta Chem. Scand.*, **20**, 259 (1966).
169. J. Nunez, C. Jacquemin, J. Roche, *Int. J. Appl. Radiat. Isotop.*, **13**, 573 (1962).
170. W. Lovenberg, R. E. Bensinger, R. L. Jackson, J. W. Daly, *Analyst. Biochem.*, **43**, 269 (1971).
171. P. Pradelles, J. L. Morgat, P. Fromageot, C. Olivier, P. Jacquet, D. Gourdji, A. Ti-xier-Vidal, *FEBS Letters*, **22**, 19 (1972).
172. J. L. Morgat, L. T. Hung, P. Fromageot, *Biochim. Biophys. Acta*, **207**, 374 (1970).
173. Венг. пат. 13924 (1977); С. А., **88**, 191487 (1978).
174. Д. Кери, И. Теплан, И. Мэзё, в сб. *Органические соединения, меченные радиоактивными изотопами*, Прага, 1977, стр. 89.

175. *P. Pradelles, J. L. Morgat, P. Fromageot, M. Camier, D. Bonne, P. Cohen, J. Bockaert, S. Jard*, FEBS Letters, 26, 189 (1972).
176. *G. Fluoret, S. Terada, F. Yang, S. H. Nakagawa, T. Nakahara, O. Hechter*, Biochemistry, 16, 2119 (1977).
177. *J. L. Morgat, L. T. Hung, R. Cardinaud, P. Fromageot, J. Bockaert, M. Imbert, F. Morel, J. Labelled Compounds*, 6, 276 (1970).
178. *K. Pawelczak, B. Rzeszotarska, B. Nadolska*, Ann., 1976, 1521.
179. *Н. Ф. Мясоедов, Г. В. Сидоров, А. Ф. Усатый, Н. С. Марченков*, в сб. Органические соединения, меченные радиоактивными изотопами, Прага, 1977, стр. 228.
180. *J. Filip, J. Havlicek*, Jad. Energ., 15, 388 (1969).
181. Пат. ЧССР 137984 (1970); С. А., 76, 25545 (1972).
182. Пат. ЧССР 133141 (1969); С. А., 78, 77276 (1970).
183. *K. K. Gauri, K.-W. Pfleiderer, R. Müller*, Naturforsch., 24B, 833 (1969).
184. *Б. Черны, Я. Гануш*, в сб. Органические соединения, меченные радиоактивными изотопами, Прага, 1977, стр. 159.
185. *И. Филип, Й. Шкода, Й. Фаркаш*, Там же, стр. 162.
186. *J. Roemer, M. Kiessling*, Isotopenpraxis, 11, 150 (1975).
187. *M. Kuslinig*, в сб. Органические соединения меченные радиоактивными изотопами, Прага, 1977, стр. 202.
188. Авт. свид. СССР № 249391 (1972); РЖХим, 1973, 8Н351.
189. *В. М. Вдовенко, В. Н. Боброва, Э. Г. Айрапетянц, А. В. Жарков*, в сб. Производство изотопов, Атомиздат, М., 1973, стр. 180.
190. *J. Filip, L. Bohaček*, Radioisotopy, 12, 949 (1971).
191. *В. М. Вдовенко, В. Н. Боброва, Л. С. Гордеева, В. К. Дедова*, Радиохимия, 14, 457 (1972).
192. *L. Bohaček, J. Filip*, Radioisotopy, 14, 783 (1973).
193. *И. И. Колесникова, Л. А. Тимофеева*, в сб. Исследования в области химии и технологии изотопов и меченых соединений, Л., 1977, стр. 3.
194. *К. С. Михайлов, Н. Л. Чичикова, В. С. Орлова, Н. С. Марченков, Н. Ф. Мясоедов*, в сб. Органические соединения, меченные радиоактивными изотопами, Прага, стр. 111.
195. *M. Gut, M. Uskoković*, Naturwiss., 47, 40 (1960).
196. *M. Gut, M. Uskoković*, J. Org. Chem., 25, 792 (1962).
197. *R. B. Clayton, A. M. Edwards*, J. Biol. Chem., 238, 1966 (1963).
198. *В. С. Волкова, Ф. В. Татаркина, Л. И. Каклюшкина, Н. А. Игнатьева, И. Ф. Тушицын, Ц. И. Ефимова*, в сб. Органические соединения, меченные радиоактивными изотопами, Прага, 1977, стр. 53.
199. *B. H. Albrecht, D. D. Hagerman*, Steroids, 19, 177 (1972).
200. *M. M. Coombs, H. R. Roderick*, Там же, 11, 925 (1968).
201. *A. D. Fraser, S. J. Clark, H. H. Wotiz*, J. Labelled Compounds, 12, 213 (1976).
202. *S. Weinman, J. Livet*, Там же, 4, 344 (1968).
203. *T. Konishi, S. Baba, T. Matsuura*, Radioisotopes, 20, 665 (1971).
204. *E. A. Evans, R. F. Phillips*, J. Labelled Compounds, 5, 12 (1969).
205. *Я. Гануш, Я. Козел, И. Бенеш*, в сб. Органические соединения, меченные радиоактивными изотопами, Прага, 1977, стр. 73.
206. Пат. США 4071522 (1978); С. А., 88, 191201 (1978).
207. *D. J. McCaustland, D. L. Fischer, W. P. Duncan, E. J. Ogilvie, J. T. Engel*, J. Labelled Compounds, 12, 583 (1976).
208. *G. Stacher, M. Frez, S. Cohen, A. Cohen, O. Buchman*, Там же, 13, 59 (1977).
209. *D. H. G. Grout, J. A. Corkill*, Tetrahedron Letters, 1977, 4355.
210. *L. Milewich, L. R. Axelrod*, J. Labelled Compounds, 7, 101 (1971).
211. *L. M. Stephenson, R. V. Gemmer, S. P. Current*, J. Org. Chem., 42, 212 (1977).
212. *C. Bratu*, J. Labelled Compounds, 7, 161 (1971).
213. *К. Брату*, в сб. Органические соединения, меченные радиоактивными изотопами, Прага, 1977, стр. 37.
214. *J. J. Kopecký, B. Pavlá*, Coll. Czech. Chem. Commun., 37, 2039 (1972).

Институт биоорганической химии
имени М. М. Шемякина АН СССР,
Москва