

Н. Е. Щепина^{*}, В. В. Аврорин^а, Г. А. Бадун^б,
С. Б. Льюис^в, С. Е. Уханов^г

ПОЛУЧЕНИЕ КОНДЕНСИРОВАННЫХ *N*-ФЕНИЛЗАМЕЩЁННЫХ ПИРИДИНИЕВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ РЕАКЦИЕЙ ПРЯМОГО ФЕНИЛИРОВАНИЯ НУКЛЕОГЕННЫМИ ФЕНИЛ-КАТИОНАМИ

В результате ион-молекулярных взаимодействий нуклеогенных фенил-катионов с акридином и фенантридином впервые осуществлена реакция прямого фенилирования атома азота в конденсированных пиридиновых производных. Получены меченные тритием *N*-фенилакридиниевые и фенантридиниевые соединения, чувствительные маркеры для биологических исследований.

Ключевые слова: нуклеогенные фенил-катионы, соли *N*-фенилакридиния и фенантридиния, тритий, ядерно-химический синтез.

Акридин и фенантридин представляют собой конденсированную систему, состоящую из двух бензольных и одного пиридинового кольца. Трициклическая система акридина аналогична антрацену, а азааналогом фенантрена является фенантридин. Производные акридина и фенантридина – это хорошо известные в практике антибактериальные средства (профлавин и акрафлавин), анальгетик (тактрин), антималярийный препарат (менакрин) и фенантридиниевый трипаноцидный препарат (этидиум) [1]. Акридиновые и фенантридиновые соединения применяются как флуоресцентные пробы [2–6], антибактериальные и антималярийные вещества [7–11], блокаторы кальциевых каналов [12], в борнейтронозахватной [13] и противораковой терапии, а также в лечении ВИЧ-инфекции [14–21].

Необходимо отметить, что основную часть исследуемых веществ составляют четвертичные алкильные производные акридина и фенантридина. Установлено, что наличие положительного заряда на атоме азота существенно усиливает как антибактериальную [22–28], так и противораковую [29–35] активность соединений. В настоящее время расширяется диапазон поиска новых лекарственных веществ, содержащих в своем составе акридиновую или фенантридиновую структуры. Это связано ещё и с тем, что при исследовании антибактериальных препаратов была обнаружена резистентность бактерий (особенно грамотрицательных) к постоянно используемым биоцидам, что требует разработки новых структурных аналогов лекарственных средств [36–41]. Кроме того, было установлено, что производные фенантридина создают возможность потенциально новой терапии рака, мишенью которой является пролиферация (деление) раковых, а не здоровых клеток [42].

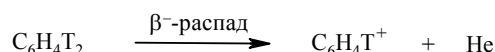
Классические методы синтеза производных акридина и фенантридина сложны, многостадийны и не позволяют получать их с хорошими выходами [43–47]. Как и в случае других пиридиновых производных, реакция прямого фенилирования атома азота для конденсированных соединений также не-

осуществима [44, 46, 48]. При прямом фенилировании акридина фениллитием по типу реакции Михаэля может быть получен только 9-фенил-9,10-дигидроакридин с последующим восстановлением до 9-фенилакридина [49], а не соль *N*-фенилакридиния. Соль *N*-фенилзамещённого фенантридиния (5-фенил-7,9-диэтоксифенантридиний) может быть получена из солей *N*-фенилхинолиния при взаимодействии с кетендиэтилацеталем [50].

В связи с важностью акридиниевых и фенантридиниевых производных разработка новых путей синтеза неизвестных и труднодоступных соединений данного ряда является крайне актуальной и перспективной задачей. Получение же этих соединений с фиксированной тритиевой меткой даёт возможность детального исследования тонких механизмов биологического действия препаратов акридиновой и фенантридиновой структуры и процессов их метаболизма с помощью метода меченых маркеров.

Ни один из рассмотренных классических путей синтеза *N*-фенилзамещённых трициклических производных не позволяет получать эти соединения с фиксированной тритиевой меткой вследствие сложности и многостадийности метода, что ведёт к существенной потере радиоактивности, а также из-за отсутствия необходимых исходных меченых соединений.

Ядерно-химический метод даёт уникальную возможность прямого фенилирования гетероциклического азота. При самопроизвольном β -распаде трития в составе меченного тритием бензола происходит генерирование свободных фенил-катионов. Наличие хотя бы двух атомов трития в молекуле бензола приводит к получению меченных тритием катионов [51]:



Синтез двукратно меченного тритием бензола проводят в вакуумной системе по реакции:

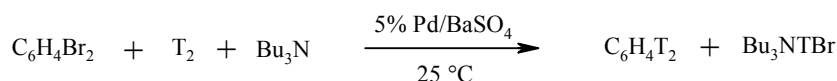
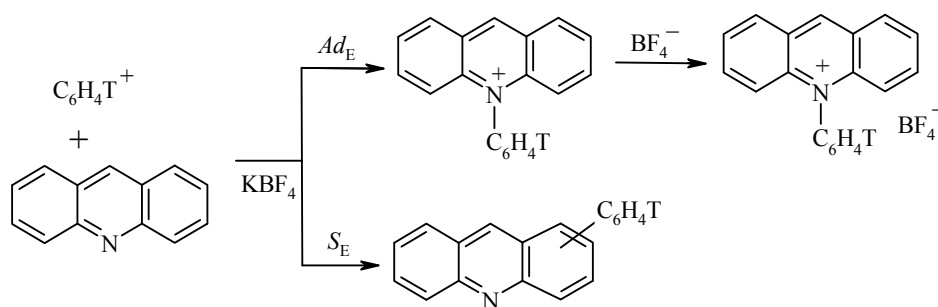


Схема взаимодействия нуклеогенных фенил-катионов с акридином может быть представлена следующим образом:



С фенантридином реакция протекает аналогично, только в этом случае наличие двух неравноценных бензольных колец позволяет ожидать появления более широкого спектра продуктов замещения уже по обоим аннелированным кольцам.

При взаимодействии свободных фенил-катионов с гетероциклической системой исследуемых конденсированных производных происходит как

реакция электрофильного присоединения Ad_E (взаимодействие по неподелённой электронной паре атома азота) с образованием четвертичных солей, так и реакция электрофильного замещения S_E по бензольным кольцам.

Ион-молекулярные реакции осуществляются в запаянных ампулах, содержащих тритированный бензол (источник фенил-катионов) и субстраты – акридин и фенантридин, нанесённые на кристаллы стабилизирующей соли. Ампулы с реакционной смесью выдерживают для накопления продуктов реакции в количествах, достаточных для их надёжного определения (не менее 30 сут). После накопления ампулу вскрывают, и проводят анализ меченных тритием продуктов реакции.

Радиохимические выходы борфторидов *N*-фенилакридиния и *N*-фенилфенантридиния представлены в таблице. Для сравнения в таблице также представлен полученный ранее выход ониевого производного при ядерно-химическом синтезе из хинолина [52, 53].

Электрофильная атака по атому азота зависит от его нуклеофильности, что определяется плотностью заряда на нём. Конденсированные бензольные кольца, подобно алкильным группам, имеют относительно слабый электронный эффект и мало влияют на значение ρK_a , которое для пиридина составляет 5.20, для хинолина – 4.85, а для акридина и фенантридина – 5.64 и 4.52 соответственно [48]. Вследствие этого выходы фенилзамещённых четвертичных солей при ядерно-химическом синтезе из трициклических производных азота и из хинолина примерно одинаковы (см. табл.). Конкурентная реакция – реакция *C*-электрофильного замещения протекает для самого пиридина значительного труднее, чем для бензола, но наличие активирующего заместителя или конденсированного бензольного кольца резко сдвигает взаимодействие в сторону реакции замещения [44, 46, 48]. Аналогичную тенденцию мы наблюдали при сравнении выходов продуктов электрофильного замещения (S_E) при ядерно-химическом синтезе из пиридина, пиколинов и бензопиридинов [54, 55]. Для пиколинов выходы продуктов замещения увеличиваются практически в два раза, для хинолина – в три, по сравнению с незамещённым пиридином (в случае пиридина суммарный выход изомеров фенилпиридина составил 22% [54]). Введение второго бензольного кольца в случае акридина и фенантридина ещё больше смещает ион-молекулярные взаимодействия в сторону электрофильного замещения, понижая выход продукта присоединения – ониевой соли (см. табл.).

Интересные данные, свидетельствующие об эффективности реакций электрофильного замещения по бензольным кольцам конденсированных пиридиновых систем, были получены на примере реакции нитрования (рис. 1).

При анализе продуктов ион-молекулярных реакций нуклеогенных фенил-катионов с акридином на радиохроматограмме (рис. 2) было обнаружено, что кроме ониевой соли (первый пик на хроматограмме) образуются только два продукта электрофильного замещения.

Радиохимические выходы ониевых солей конденсированных пиридиновых производных

Субстрат	Выход ониевой соли, %
Хинолин	21 ± 3
Акридин	14 ± 2
Фенантридин	17 ± 1

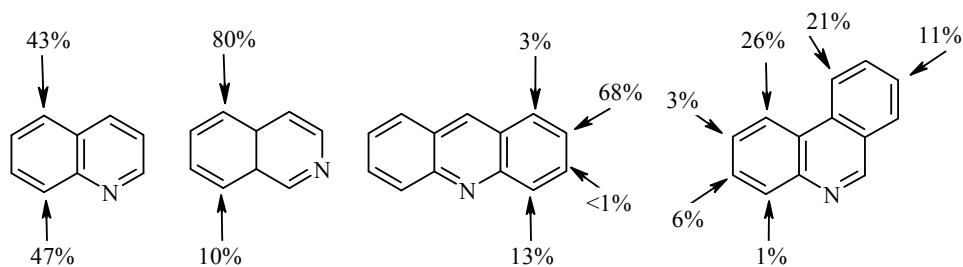


Рис. 1. Выходы изомеров при реакции нитрования ряда конденсированных шестичленных азотистых производных [48]

Для фенантридина на радиохроматограмме видно несколько, хотя и трудноразделимых пиков, относящихся к продуктам электрофильного замещения по бензольным кольцам гетероцикла (рис. 3).

С помощью программного пакета *Fityk* [56] был проведён анализ функции распределения на тонкослойной пластине меченных тритием продуктов ядерно-химического синтеза из фенантридина (рис. 4). Кроме основного соединения – ониевой соли (пик 1, выход по площади 13%), удалось разделить еще 4 продукта реакции электрофильного замещения (пик 2 – выход 10, 3 – 9, 4 – 51 и 5 – 17%).

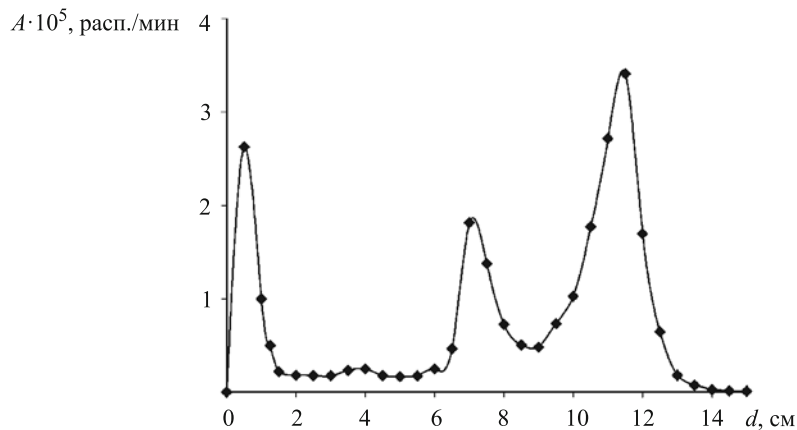


Рис. 2. Радиохроматограмма меченных тритием продуктов ион-молекулярных реакций фенол-катионов с акридином. *A* – активность, *d* – длина хроматограммы

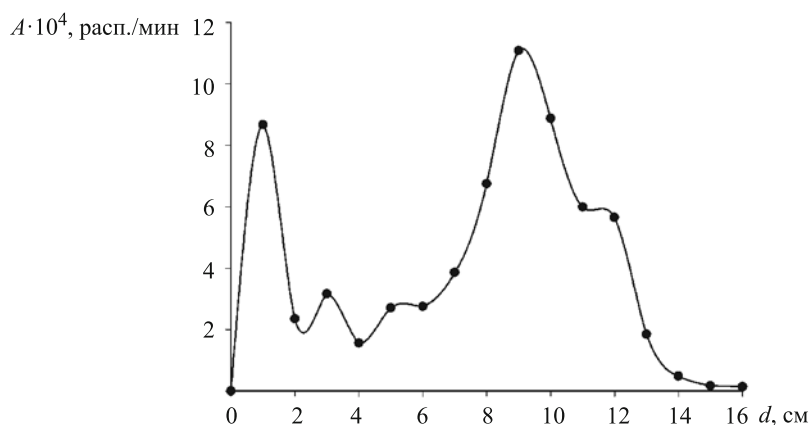


Рис. 3. Радиохроматограмма меченных тритием продуктов ион-молекулярных реакций фенол-катионов с фенантридином. *A* – активность, *d* – длина хроматограммы

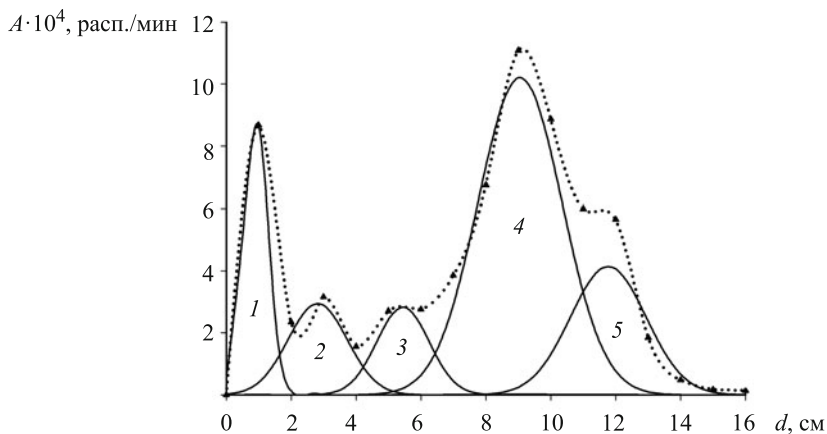


Рис. 4. Аппроксимация разделения продуктов на хроматограмме в случае фенантридина. A – активность, d – длина хроматограммы. Пунктирная линия с точками – результаты экспериментальных данных

В заключение необходимо отметить, что, несмотря на относительно невысокие выходы четвертичных *N*-фенилакридиниевых и фенантридиниевых солей, полученных при ион-молекулярных реакциях свободных нуклеогенных фенил-катионов (т. е. катионов, полученных при самопроизвольном β -распаде трития, без противоиона и сольватной оболочки) с гетероциклическими субстратами, ядерно-химический метод впервые позволил осуществить неизвестную ранее реакцию прямого фенилирования атома азота в трициклических пиридиновых производных. Предложенный ядерно-химический метод и с успехом может быть использован для простого, одностадийного, синтеза различных труднодоступных замещённых *N*-фенилакридиниевых и фенантридиниевых производных, меченных тритием структурных аналогов важных биологически активных веществ.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Для получения двукратно меченного тритием бензола использован газообразный тритий (ПО "Изотоп", Россия) с изотопной чистотой 99%.

Анализ дитритийбензола осуществлён методом газовой хроматографии. Колонка набивная SE-30 на Inerton, длина 2 м; детекторы – катарометр и пропорциональный проточный счетчик; температура колонки – 30 °С; температура испарителя – 70 °С; температура детекторов – 70 °С; объёмная скорость потока газа-носителя – 20 см³/мин; газ-носитель – гелий.

Радиохроматографию полученных тритированных соединений осуществляют на стеклянных пластинках Analtech TLC Uniplates (C18 silica gel matrix, fluorescent indicator, 5 × 20 см) с использованием элюента ацетонитрила. В качестве ониевого носителя и свидетеля используется полученный нами борфторид *N*-фенилбензохи-нальдиния [57]. Участки адсорбционного слоя хроматограммы по 0.5 см длиной переносят в сцинтиллятор на основе диоксана, и проводят измерение их радиоактивности с помощью жидкостного сцинтилляционного счётчика RackBeta 1215.

Двукратно меченный тритием бензол. 3.4 мг (0.014 ммоль) дибромбензола, 5.0 мкл (0.020 ммоль) трибутиламина в 200 мкл гексана гидрируют 3.3 Ки (0.054 ммоль) газообразного трития на катализаторе 5% Pd/BaSO₄ (предварительная активация катализатора проведена при 160–180 °С в течение 45 мин в динамическом вакууме 10⁻³ мм рт. ст.) при комнатной температуре в течение 1 ч. Синтезированный двукратно меченный тритием бензол выделяют из реакционной смеси дистилляцией

совместно с гексаном в вакууме при комнатной температуре в ампулу, охлаждаемую жидким азотом. Химическая чистота синтезированного меченого бензола определена методом ГЖХ. Наличие на хроматограммах с детектированием по теплопроводности двух пиков (гексана и бензола) и одного пика (пика бензола при детектировании по радиоактивности) позволяет заключить, что химическая и радиохимическая чистота синтезированного бензола не менее 99%. Измеренная сцинтилляционным методом объёмная удельная активность полученного раствора в гексане составила 1 Ки/мл.

Методика ядерно-химического синтеза. Ион-молекулярные реакции осуществляют в запаянных ампулах объёмом ~0.25 мл, заполненных почти полностью стабилизирующей солью (тетрафторборатом калия), на поверхность которой нанесён изучаемый субстрат – акридин или фенантридин. Для равномерного нанесения субстрата на поверхность соли её смачивают эфирным или бензольным раствором, содержащим 9.9 мг (0.055 ммоль) субстрата. Растворитель удаляют в вакууме при комнатной температуре и в ампулы вводят по 1 мкл гексанового раствора меченого тритием бензола. Ампулы охлаждают жидким азотом, вакуумируют и запаивают. Мольное соотношение бензол–субстрат в реакционных смесях составляет ~1:1000.

Ампулы с реакционной смесью выдерживают для накопления продуктов реакции в количествах, достаточных для их надёжного детектирования по радиоактивности (не менее 30 сут), непрореагировавший бензол отгоняют в вакууме, субстрат с продуктами реакции смывают с поверхности стабилизирующей соли ацетоном или ацетонитрилом. Выделение и идентификацию синтезированных соединений проводят методом ТСХ.

Работа выполнена при поддержке РФФИ, грант № 10-03-00685.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Общая органическая химия*, под ред. Д. Бартона, У. Д. Оллиса, Химия, Москва, 1985, т. 8, с. 327.
2. W. T. Mason, in *Fluorescent and Luminescent Probes*, 2nd ed., Acad. Press, Cambridge, 1999.
3. C. D. Geddes, *Dyes Pigm.*, **45**, 243 (2000).
4. K. Smith, Z. Li, J.-J. Yang, I. Weeks, J. S. Woodhead, *J. Photochem. Photobiol., A*, **132**, 181 (2000).
5. N. W. Luedtke, Q. Liu, Y. Tor, *Bioorg. Med. Chem.*, **11**, 5235 (2003).
6. J. Lin, H. Ju, *Biosens. Bioelectron.*, **20**, 1461 (2005).
7. А. Г. Михайловский, Т. Г. Таранова, Б. Я. Сыропятов, М. И. Вахрин, *Хим.-фарм. журн.*, **26**, № 11–12, 53 (1992).
8. T. Ferenc, E. Janik-Spiechowicz, W. Bratkowska, D. Lopaczynska, H. Strozynski, A. Denys, A. Mordalska, *Mutat. Res., Genet. Toxicol. Environ. Mutagen.*, **444**, 463 (1999).
9. W. A. Denny, *Curr. Med. Chem.*, **9**, 1655 (2002).
10. Y.-L. Chen, I.-L. Chen, C.-M. Lu, C.-C. Tzeng, L.-T. Tsao, J.-P. Wang, *Bioorg. Med. Chem.*, **11**, 3921 (2003).
11. J. Chiron, J.-P. Galy, *Synlett*, 2349 (2003).
12. R. Simsek, M. Ozkan, E. Kismetli, S. Uma, C. Safak, *Farmaco*, **59**, 939 (2004).
13. M. Johnson, N. Bergstand, K. Edwards, *J. Liposome Res.*, **9**, 53 (1999).
14. Н. Т. Чаганова В. Н. Буянов, Н. Н. Суворов, Т. С. Сафонова, И. А. Безруков, Ю. А. Ершова, Е. Ф. Кулешова, *Хим.-фарм. журн.*, **25**, № 12, 27 (1991).
15. J. Stanslas, D. J. Hagan, M. J. Ellis, C. Turner, J. Carmichael, W. Ward, T. R. Hammonds, M. F. G. Stevens, *J. Med. Chem.*, **43**, 1563 (2000).
16. Б. Клемент, М. Вайде, Пат. РФ 2180333.
17. R. A. Heald, C. Modi, J. C. Cookson, I. Hutchinson, C. A. Laughton, S. M. Gowan, L. R. Kelland, M. F. G. Stevens, *J. Med. Chem.*, **45**, 590 (2002).

18. H. Baruah, C. L. Rector, S. M. Monnier, U. Bierbach, *Biochem. Pharmacol.*, **64**, 191 (2002).
19. N. H. Cambell, G. N. Parkinson, A. P. Reszka, S. Neidle, *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 6722 (2008).
20. J. R. Goodell, A. V. Ougolkov, H. Hiasa, H. Kaur, R. Rimmel, D. D. Billadeau, D. M. Ferguson, *J. Med. Chem.*, **51**, 179 (2008).
21. Z. Ma, G. Saluta, G. L. Kucera, U. Bierbach, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **18**, 3799 (2008).
22. J. W. Lown, B. C. Gunn, K. C. Majumbar, E. McGoran, *Can. J. Chem.*, **57**, 2305 (1979).
23. C. Goto, T. Someya, S. Chihara, Y. Mizuguchi, M. Fukunaga, *J. UOEH*, **6**, 257 (1984).
24. W. Monte, J. Stamm, *Tetrahedron Lett.*, **34**, 7161 (1993).
25. M. J. Gill, N. P. Brenward, R. Wise, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43**, 187 (1999).
26. T. Mine, Y. Morita, A. Kataoka, T. Mizushima, T. Tsuchiya, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **43**, 415 (1999).
27. J. N. A. Tettey, G. G. Skellern, J. M. Midgley, M. H. Grant, R. Willkinson, A. R. Pitt, *Xenobiotica*, **29**, 349 (1999).
28. R. J. Anderson, P. W. Groundwater, Y. Huang, A. L. James, S. Orenga, A. Rigby, C. Roger-Dalbert, J. D. Perry, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **18**, 832 (2008).
29. В. И. Сладков, В. А. Хохлов, Ю. А. Ершова, В. А. Чернов, Ю. В. Хохлова, А. Ф. Нанасюк, Н. Н. Суворов, *Хим.-фарм. журн.*, **21**, № 6, 660 (1987).
30. N. W. Luedtke, Q. Liu, Y. Tor, *Bioorg. Med. Chem.*, **11**, 5235 (2003).
31. А. Масуда, М. Сува, М. Сузуки, Пат. РФ 2183626.
32. N. Patino, C. Di Giorgio, C. Dan-Covalciuc, V. Peytou, R. Terreux, D. Cabrol-Bass, C. Bailly, R. Condom, *Eur. J. Med. Chem.*, **37**, 573 (2002).
33. C. Leonetti, S. Amodei, C. D'Angelo, A. Rizzo, B. Benassi, A. Antonelli, R. Elli, M. F. G. Stevens, M. D'Incalci, G. Zupi, A. Biroccio, *Mol. Pharmacol.*, **66**, 1138 (2004).
34. A. D. C. Parently, L. V. Smith, K. M. Guthrie, D.-L. Long, J. Plumb, R. Brown, L. Cronin, *J. Med. Chem.*, **48**, 4504 (2005).
35. A. Parenty, L. Cronin, R. Brown, WO Pat. Appl. WO2005054241.
36. L. S. Stratchounski, R. S. Kozlov, G. K. Rechedko, O. U. Stetsiouk, E. P. Chavrikova, *Clin. Microbiol. Infect.*, **9**, 497 (1998).
37. P. Nordberg, C. Stalsby-Lundborg, G. Tomson, *Int. J. Risk Safety Med.*, **17**, 117 (2005).
38. D. L. Heymann, in *Abstracts of 2010 Conference on Antimicrobial Resistance*, Bethesda, Maryland, USA, 2010, p. 26.
39. M. H. Scheetz, K. M. Hurt, G. A. Noskin, C. M. Oliphant, *Am. J. Health-System Pharm.*, **63**, 1346 (2006).
40. K. Kurokawa, H. Hamamoto, M. Matsuo, S. Nishida, N. Yamane, B. L. Lee, K. Murakami, H. Maki, K. Sekimizu, *Antimicrob. Agents Chemother.*, **53**, 4025 (2009).
41. G. P. Suresha, K. C. Prakasha, K. N. S. Kumara, W. Kapfo, D. C. Gowda, *Int. J. Pept. Res. Ther.*, **15**, 25 (2009).
42. A. Castiel, L. Visochek, L. Mittelman, F. Dantzer, S. Izraeli, M. Cohen-Armon, *BMC Cancer*, **11**, 412 (2011).
43. В. И. Иванский, *Химия гетероциклических соединений*, Высшая школа, Москва, 1978.
44. J. A. Joule, K. Mills, *Heterocyclic Chemistry*, 4th ed., Blackwell Sci., Oxford, 2000.
45. J. Chiron, J.-P. Galy, *Synthesis*, 313 (2004).
46. Т. Джилкрист, *Химия гетероциклических соединений*, Мир, Москва, 1996.
47. *Supplements to the 2nd ed. of Rodd's Chemistry of Carbon Compounds*, M. F. Ansell (Ed.), Elsevier, 1987, vol. 4, part. G.
48. A. R. Katritzky, *Handbook of Heterocyclic Chemistry*, Pergamon Press, New York, 1985.
49. B. Dutta, G. K. Kar, J. K. Ray, *Tetrahedron Lett.*, **44**, 8641 (2003).

50. G. Scherowsky, J. Pickardt, *Chem. Ber.*, **116**, 186 (1983).
51. Н. Е. Щепина, В. В. Аврорин, Г. А. Бадун, С. Б. Льюис, В. М. Федосеев, С. Е. Уханов, *Вестн. МГУ, Сер. 2. Химия*, **50**, 311 (2009).
52. Н. Е. Щепина, В. В. Аврорин, Г. А. Бадун, Г. А. Александрова, Пат. РФ 2320647.
53. Н. Е. Щепина, В. В. Аврорин, Г. А. Бадун, Г. А. Александрова, С. Е. Уханов, В. М. Федосеев, С. Б. Льюис, И. И. Бойко, *ХГС*, 1008 (2009). [*Chem. Heterocycl. Compd.*, **45**, 796 (2009).]
54. Н. Е. Щепина, В. Д. Нефедов, М. А. Торопова, В. В. Аврорин, Д. С. Гембицкий, *Радиохимия*, **41**, 523 (1999).
55. Н. Е. Щепина, В. В. Аврорин, Г. А. Бадун, В. М. Федосеев, С. Е. Уханов, С. Б. Льюис, *Радиохимия*, **49**, 551 (2007).
56. M. Wojdug, *J. Appl. Cryst.*, **43**, 1126 (2010).
57. Н. Е. Щепина, И. И. Бойко, Г. А. Александрова, *Хим.-фарм. журн.*, **45**, № 3, 30 (2011).

Естественнаучный институт
Пермского государственного университета,
ул. Генкеля, 4, Пермь 614990, Россия
e-mail: neshcherina@mail.ru

Поступило 24.01.2011
После доработки 3.01.2012

^aСанкт-Петербургский государственный университет,
Университетская наб., 7/9,
Санкт-Петербург 199034, Россия
e-mail: radiochem@yandex.ru

^bМосковский государственный университет
им. М. В. Ломоносова,
Ленинские горы, д. 1, стр. 3, Москва 119991, Россия
e-mail: ga_ba@mail.ru

^bУниверситет Дж. Мэддисона,
800 Саут Мейн Стрит, Харрисонбург, Вирджиния 22807, США
e-mail: lewissb@jmu.edu

^гПермский государственный технический университет,
Комсомольский пр., 29а, Пермь 614600, Россия
e-mail: myamlik1@yandex.ru