



УДК 546.11.027.3+547.964

ПОЛУЧЕНИЕ МЕЧЕННОГО ТРИТИЕМ ТЕТРАФТОРБОРАТА
ТРИЭТИЛОКСОНИЯ — РЕАГЕНТА ДЛЯ МОДИФИКАЦИИ БЕЛКОВ*Смоляков В. С., Петренко А. Г., Ушаков А. Н.,
Нейман Л. А.**Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина
Академии наук СССР, Москва*

Метод термической активации газообразного трития применен для получения меченного тритием тетрафторбората триэтилоксония с удельной радиоактивностью 5 Ки/ммоль.

Триалкилоксониевые соли с успехом используются для модификации биополимеров, в частности белков [1–4], карбоксильные группы которых селективно этерифицируются при обработке тетрафторборатами триметил- или триэтилоксония в водной среде [4, 5]. Особенно перспективной представляется модификация белков с помощью радиоактивных триалкилоксониевых солей, но до настоящего времени описано [1] только применение тетрафторбората триэтилоксония (ТТЭО), меченного ^{14}C , с очень низкой удельной радиоактивностью (~ 1 мКи/ммоль). Чтобы располагать радиоактивными препаратами ТТЭО с высокой (более 1 Ки/ммоль) удельной активностью, необходимо ввести в молекулу ТТЭО тритиевую метку. Решение этой проблемы связано, однако, со значительными трудностями. Исходными соединениями в описанных синтезах ТТЭО [6, 7] являются диэтиловый эфир и бромистый или подистый этил. Работа с этими веществами, меченными тритием, весьма сложна как из-за их высокой летучести, так и из-за легко протекающего авторадииолиза тритийсодержащих галоидных алкилов. Ни в СССР, ни за рубежом Et_2O , EtI и EtBr , меченные тритием, не выпускаются.

Чтобы облегчить задачу, мы применили для введения тритиевой метки в ТТЭО метод термической активации газообразного трития (ср. [8]), использованной нами ранее [9] при получении тритийсодержащих фосфолипидов. Бомбардируя атомами ^3H , активированными на раскаленной вольфрамовой нити (2200°C , давление $^3\text{H}_2$ 10^{-2} мм), небольшие порции нерадиоактивного ТТЭО, нанесенные в виде тонкой пленки на стенки реакционного сосуда (продолжительность экспозиции 30 с), нам удалось получить [^3H]ТТЭО с удельной радиоактивностью ~ 5 Ки/ммоль. По окончании экспозиции [^3H]ТТЭО растворяли в хлористом метиле или нитробензоле. Содержание ТТЭО в растворе определяли с помощью специальной методики, основанной на ГЖХ (см. «Экспериментальную часть»).

Хотя введение трития сопровождается значительным разрушением образца и химический выход [^3H]ТТЭО из ТТЭО не превышает 20%, предлагаемый метод тем не менее позволяет достаточно просто и быстро при-

готовить [^3H]ТТЭО с высокой удельной радиоактивностью и в удовлетворительных количествах. Получение исходного немеченого ТТЭО не представляет какой-либо проблемы, продолжительность одной операции по введению трития невелика, а образующийся [^3H]ТТЭО не требует дополнительной очистки. В этом смысле ТТЭО — уникальный объект для приложения метода термической активации газообразного трития. Основными недостатками метода обычно являются высокая степень разложения вещества (что связано с необходимостью очистки от большого количества радиоактивных примесей) и преимущественное включение трития в лабильные положения (что требует многочисленных отмывок для обратного обмена в этих положениях); однако в случае ТТЭО они оказываются незначительными. Действительно, все возможные продукты разложения ТТЭО (Et_2O , EtO^3H , BF_3 и ^3HF) представляют собой легко летучие вещества и удаляются уже в условиях эксперимента (10^{-1} – 10^{-2} мм), лабильных же положений в молекуле нет.

Экспериментальная часть

ТТЭО синтезировали по стандартной методике [6], хранили под абс. диэтиловым эфиром при 0°C и все операции проводили в абсолютных растворителях в атмосфере сухого азота.

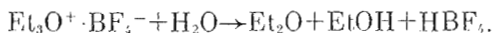
$^3\text{H}_2$ -газ использовали в виде фасовок по 100 мКи («Изотоп»).

ГЖХ-анализ проводили на хроматографе серии 104 модели 64 (Pye Unicam, Англия).

Радиоактивность определяли на сцинтилляционном счетчике «Mark II».

Получение [^3H]ТТЭО. В стеклянном реакционном сосуде диаметром 75 мм и длиной 100 мм с размещенной по оси вольфрамовой нитью проводили 20 порциями облучение 20 мг ТТЭО. Каждую порцию вещества наносили тонкой пленкой путем испарения раствора в CH_2Cl_2 . Сосуд вакуумировали до давления 10^{-4} мм рт. ст., заполняли газообразным тритием до давления 10^{-2} мм рт. ст. и нагревали вольфрамовую нить до 2200°C , охлаждая стенки сосуда жидким азотом. Время экспозиции составляло 30 с. После откачивания оставшегося $^3\text{H}_2$ -газа вещество растворяли в 5 мл CH_2Cl_2 в атмосфере сухого азота. Весовое количество, по данным ГЖХ, составляло ~ 4 мг. Удельная радиоактивность ~ 5 Ки/ммоль (среднее из 6 опытов).

Количественное определение ТТЭО методом ГЖХ. Абсолютное количество соли в образце определяли газохроматографическим анализом продуктов ее гидролиза:



Гидролиз проводили непосредственно в газохроматографической колонке хроматографа, снабженного пламенно-ионизационным детектором. Перед каждым определением отключали подачу газа-носителя (аргона), микрошприцем вводили в колонку 2 мкл нитробензольного раствора ТТЭО, 10 мкл воды и через 2 мин включали подачу газа-носителя (40 мл/мин). На хроматограмме регистрировали пики диэтилового эфира и этилового спирта. Температуру колонки (1500×4 мм, 3% неопентилгликольадипиата) поддерживали равной 60°C . Количество ТТЭО в пробе определяли по калибровочному графику. График строили, дозируя в колонку разные количества (от 0,1 до 2 мкг) ТТЭО и измеряя площадь пика диэтилового эфира. Ошибка определения составляла 15–20 отн.%. Этиловый спирт регистрировался менее симметричным пиком и с худшей воспроизводимостью.

ЛИТЕРАТУРА

1. Parsons S. M., Jao L., Dahlquist F. W., Borders C. L., Groff T., Racs J., Raffry M. A. (1969) *Biochemistry*, **8**, 700—712.
2. Nakayama H., Tanizawa K., Kanaoka Y. (1970) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **40**, 537—541.
3. Chao Y., Vandlen R. L., Raffery M. A. (1975) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **63**, 300—307.
4. Rawn J. D., Lienhard G. E. (1974) *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*, **56**, 654—660.
5. Yonemitsu O., Hamada T., Kanaoka Y. (1969) *Tetrahedron Lett.*, 1819—1820.
6. Meerwein H. (1966) *Org. Synth.*, **46**, 113—115.
7. Meerwein H., Hederich V., Wunderlich K. (1958) *Arch. Pharm.*, **291**, 541—554.
8. Шишков А. В., Филатов Э. С., Симонов Е. Ф., Унукович М. С., Гольдманский В. П., Несмеянов А. Н. (1976) *Докл. АН СССР*, **228**, 1237—1239.
9. Смоляков В. С., Цвиренина М. Л., Ушаков А. Н., Пейман Л. А. (1981) *Биоорганическая химия*, **7**, 284—288.

Поступила в редакцию
2.VI.1980

PREPARATION OF TRITIUM LABELED TRIETHYLOXONIUM TETRAFLUOROBORATE, A REAGENT FOR PROTEIN MODIFICATION

SMOLYAKOV V. S., PETRENKO A. G., USHAKOV A. N., NEIMAN L. A.

*M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow*

Thermal activation of tritium gas is used for preparation of tritium labeled triethyloxonium tetrafluoroborate having a specific radioactivity of 5 Ci/mmol.