

О. П. Сабадах, М. Г. Мокляк, Є. Р. Лучкевич, Т. М. Тарас,
Л. Д. Болібрux*, І. І. Губицька*

Прикарпатський національний університет імені Василя Стефаника,
*Національний університет "Львівська політехніка",
кафедра технології біологічно активних сполук, фармації та біотехнології

ПІДБІР УМОВ СИНТЕЗУ ТРІАЗЕНІВ АНТРАХІНОНОВОГО РЯДУ

© Сабадах О. П., Мокляк М. Г., Лучкевич Є. Р., Тарас Т. М., Болібрux Л. Д., Губицька І. І., 2014

Проаналізовано вплив аміну та середовища на реакцію N-азосполучення 9,10-антрахінон-діазоній катіона з аліфатичними амінами. Структуру одержаних сполук підтверджено даними ЯМР ^1H -спектроскопії.

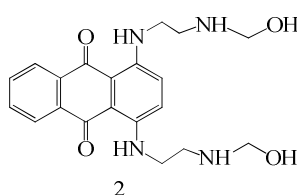
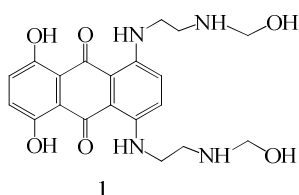
Ключові слова: триазени, 9,10-антрахінони, антрахінон-діазоній катіон, константа швидкості розкладу, реакції N-азосполучення.

The influence of amines and solvent on the N-nitrogen coupling reaction the 9,10-anthraquinone-cation diazoniy with and aliphatic amines was analyzed. The structure of received compounds is confirmed by ^1H NMR-spectroscopy data.

Key word: triazenes, 9,10-anthraquinones, anthraquinonediazonium kation, decomposition rate constant, reactions of N-azocoupling.

Постановка проблеми та її зв'язок з важливими науковими завданнями. Триазени є достатньо цікавим та різноманітним класом органічних сполук [1]. За останні роки їх потужно вивчають у зв'язку з їхніми протипухлинними властивостями [2–4], використовуються як захисні групи в синтезі важливих природних сполук [5]. Цікавим є застосування триазенів у твердофазному синтезі як якірна група, що полегшує синтез інших сполук, наприклад, похідних сечовини [6], в синтезі полімерів та олігомерів, для формування гетероциклів. Властивість триазенів розкладатися з утворенням вільних радикалів широко використовується у реакціях полімеризації та вулканізації каучуку і слугує ініціатором цих процесів. На їх основі синтезовано чисельні комплекси з Ni, Ag, Cu та іншими металами, де $-\text{N}=\text{N}-\text{NH}-$ виступає як хелатна група. Завдяки цій особливості триазени були рекомендовані Міжнародною комісією з нових аналітичних реакцій і реактивів для застосування в аналітичній хімії. Антибактеріальний ефект триазенів виявляється у їх здатності інгібувати синтез нуклеїнових кислот, утворюючи цитотоксичний йон, який здатний алкілювати молекулу ДНК.

Відомо [7, 8, 9], що деякі природні та синтетичні антрахінони, особливо, 1,4-заміщені типу (1, 2), виявляють протипухлинну активність та широко застосовуються у клінічній практиці з 80-х років минулого століття. Планарна трициклічна структура антрахінона істотна для інтреколяції між парами основ молекули ДНК, що є основним фактором, який визначає протипухлинні властивості цих речовин. Вони здатні блокувати синтез нуклеїнових кислот у онкоклітинах, інгібуючи активність топоізомерази II і, отже, порушують матричну активність ДНК.



З огляду на вищевикладене, під час виконання роботи ми намагалися поєднати подібні властивості похідних триазенів та 9,10-антрахінонів з метою одержання якісно нових сполук, які б виявляли протипухлинні антинеопластичні властивості.

Мета роботи підібрати умови синтезу триазенів, що містять антрахіноновий фрагмент та біогенний аліфатичний амін.

Аналіз попередніх досліджень і публікацій. Триазени – це сполуки, що отримують реакцією N-азосполучення діазоній катіона з амінами різної природи. Триазени можна розглядати як похідні гіпотетичної основи $\text{HN}=\text{N}-\text{NH}_2$, в якій атоми гідрогену заміщені на різні радикали. Залежно від кількості радикалів, триазени поділяють на монозаміщені, двозаміщені та тризаміщені. За природою органічних радикалів триазени можуть бути аліфатичні, ароматичні, жирно-ароматичні, гетероциклічні і жирно-гетероциклічні [10].

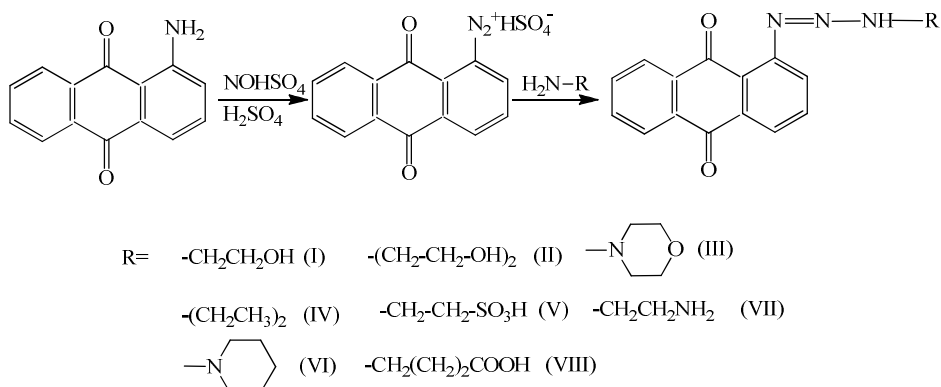
Вперше триазени, що містять антрахіноновий фрагмент, отримав Л. Вакер [11] у 1902 р. під час додавання розчину амоній карбонату до водного розчину антрахінонілдіазоній хлориду. Сьогодні відомі два класичних способи одержання триазенів: перший – сполученням солей діазонію з амінами і другий – магнійорганічний та літійорганічний синтез триазенів за участю органічних азидів. За першим способом ароматичні, аліфатичні чи гетероциклічні аміни вступають у реакцію азосполучення з діазоній катіоном у нейтральному, слабколужному або слабкокислому середовищі. Цей спосіб відкрив Грісс і його використовують досі. К. Рондешведт [12] описав способи одержання триазенів, що виявляють цікаві протипухлинні властивості і містять, окрім ароматичного кільця біля N_1 атому, аліфатичні похідні біля N_3 атому. Для низькомолекулярних амінів, які розчинні у воді, реакцію одержання триазенів проводили у водному середовищі у присутності натрій карбонату, додаючи по краплях розчин солі діазонію до лужного розчину аміну протягом 20 хв за температури 5 – 10 °С. Якщо аміни водонерозчинні, їх розчиняли у воді, додаючи хлоридну кислоту. До одержаного у такий спосіб розчину аміну додавали краплями розчин солі діазонію і через деякий час надлишок охолодженого розчину натрій карбонату. За іншим способом, погано розчинні у воді аміни розчиняли у розчині солі діазосполуки і до одержаної суміші додавали під час охолодження розчин натрію гідроксиду. Для деяких амінів замість натрію гідроксиду додавали натрію ацетат. Автори роботи описують різну термічну стійкість одержаних триазенів під час їх виділення і очистки. Л.М Горностаєв зі співробітниками [13] одержали триазени, що містять антрахіноновий фрагмент, використовуючи реакцію сполучення атрахінонілдіазоній катіона з аніліном у розчині ДМФА.

Експериментальні дослідження та їх обговорення. З часів відкриття Гріссом реакції діазотування ароматичних амінів описані численні методи проведення реакції N-азосполучення арилдіазоній катіона з різноманітними амінами, проте ця реакція залишається однією із проблемних реакцій органічної хімії. Триазени, або діазоаміносполуки, як їх назвав Грісс, утворюються під час реакції діазотування ароматичних амінів в умовах недостатньої кількості мінеральної кислоти. Під час діазотування утворення триазенів є небажаним явищем, оскільки заважає перебігу реакції і впливає на вихід діазокатіона. Здатність амінів утворювати діазоаміносполуки залежить від кислотно-основних властивостей діазоній катіона та основності вихідного аміну.

1-Аміно-9,10-антрахінон може вступати у реакцію діазотування як ароматичний амін. Аміногрупа в аміноантрахінонах виявляє низьку основність у зв'язку зі спряженням електронної пари нітрогену з ароматичним ядром і електроноакцепторним впливом карбонільної групи. Тому для діазотування таких сполук було використано методику, згідно з якою амін розчиняли у концентрованій сульфатній кислоті і діазотували нітрозилсульфатною кислотою за температури 60 °С протягом двох годин. У сильнокислому середовищі амін протонується. Нітрозамонієвий катіон утворюється під час атаки катіоном нітрозилу амоній катіона або вільного аміну. У такому разі лімітуючою стадією може бути відрив протона слабкою основою, присутньою у середовищі, від аніліній катіона або двозарядного π -комплексу. Вважають, що спочатку має місце депротону-

вання адукту анілінійнітрозоній, а потім міграція групи NO^+ від π -системи до атома аміногрупи в π -комплексі [14]. Необхідною умовою проходження нітрузування амоній похідного є депротонування π -комплексу. Сирий продукт виділяли виливанням реакційної маси на лід та подальшим фільтруванням.

Схема 1



На першому етапі роботи отриманий антрахінонілдіазоній виділяли через утворення комплексної солі з натрій тетрафлуорборатом. Реакція виділення відбувалась з високим виходом. Як виявилось під час подальшої роботи отриманий антрахінонілдіазоній тетрафлуорборат має дуже низьку розчинність у водному середовищі. Навіть у разі спектрофотометричних досліджень за низької концентрації діазоній катіона одержання істинних розчинів зумовлювало істотні труднощі. Тому надалі антрахінонілдіазоній виділяли у формі сульфату, якій виявляв меншу стабільність, проте істотно вищу розчинність. Це давало можливість використовувати отриманий продукт як у синтетичних цілях, так і в спектроскопічних дослідженнях.

Реакцію N-азосполучення проводили у водному середовищі строго контролюючи рН розчину (Схема 1). До водного розчину 0,1 моль аміну під час інтенсивного перемішування додавали водну суспензію 0,1 моль сульфату антрахінонілдіазонію, підтримуючи, за необхідності, розчином соди рН у межах 8. Осад, що утворився, відфільтровували, промивали водою і сушили у вакуумі. Перебіг реакції контролювали методом ТШХ на пластинках Silufol, елюент толуол: ацетон (9:1). Структура одержаних сполук доведена методами ЯМР ^1H спектроскопії та даними елементного аналізу (табл. 1).

Таблиця 1

Вихід, спектральні дані і дані елементного аналізу сполук (I – VI)

№ сполук и	Вихід, %	Елементний аналіз		Спектр ^1H ЯМР, δ , м.д. ДМСО- d_6
		Обраховано, %	Знайдено, %	
II	86	C – 63,72 H – 5,01 N – 12,39	C – 62,87 H – 5,1 N – 11,87	3.774 (2H, CH_2), 3.199 (3H, CH_3), 7.564 м (2H, $\text{C}^{6,7}\text{H}$), 8.137 (2H, $\text{C}^{5,8}\text{H}$), 4.77 (2H, OH)
III	89	C – 67,29 H – 4,67 N – 13,08	C – 67,11 H – 4,65 N – 13,05	3.83, 3.84 (8H, морфолін), 7.52 – 7.54 д (2H $\text{C}^{2,4}\text{H}$), 7.79 – 7.81 т (1H, C^3H), 7.86 – 7.89 м (2H, $\text{C}^{6,7}\text{H}$), 8.13 – 8.15 м (2H, $\text{C}^{5,8}\text{H}$)
IV	75	C – 70,36 H – 5,54 N – 13,68	C – 69,34 H – 4,91 N – 14,2	3.82 (2H, CH_2), 3.53 (3H, CH_3), 7.78 т (1H, C^3H), 7.87 м (2H, $\text{C}^{6,7}\text{H}$), 8.25 (2H, $\text{C}^{5,8}\text{H}$)

Під час перебігу реакції поряд з бажаним триазеном утворювався 1-гідрокси-9,10-антрахінон. У випадку з таким аміном як моноетаноламін (I) та етилендіамін (VII), продуктом реакції був винятково 1-гідрокси-9,10-антрахінон, у випадку з таурином (V), γ -аміномасляної кислоти (VIII) або піперидином (VI), окрім перелічених речовин, хроматографічно спостерігалось утворення

вихідного 1-аміно-9,10-антрахінону та продуктів невизначеного складу. Для забезпечення повноти реакції щодо діазосполуки, реакцію проводили у багатократному надлишку аміну. Проте результат був незмінний. Для пояснення отриманих результатів було проведено серію досліджень з визначення швидкості розкладу сульфату антрахінонілдіазонію у слабко лужному середовищі з використанням різного молярного співвідношення на моделі діазонійкатион: діетиламін. Константу швидкості розкладу діазосполуки визначали за методикою, запропонованою Г. Цолінгером [15], згідно з якою кінетику розкладу досліджували за зміною концентрації йонів діазонію у розчині з певним значенням рН середовища. Через певні проміжки часу відбирали аліквоти і додавали їх до розчину активної азоскладової, у нашому випадку Р-сіль (2-нафтол-3,6-дисульфокислоти динатрієва сіль). Концентрацію утвореного азобарвника визначали колориметрично ($\lambda = 540$ нм). Дослідження проводились за кімнатної температури з використанням 0,1 н буферних розчинів на основі одно-і двозаміщених фосфатів натрію, натрій тетраборату, хлоридної кислоти і натрій гідрооксиду. Йонну силу розчину, що дорівнює 0,25, досягали додаванням необхідної кількості калій хлориду.

Обчислювали константу швидкості розкладу за формулою:

$$k = \frac{1}{t} \cdot \ln \frac{D_i}{D_o - D_k},$$

де t – час, с, D_i – оптична густина барвника через проміжки часу, D_o – оптична густина барвника в нульовий момент часу, D_k – оптична густина барвника в кінцевий момент часу. Дані наведені у табл. 2. За відсутності діетиламіну константа швидкості розкладу становила $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$. Додавання каталітичної кількості діетиламіну (10 та 20 мольних відсотків діетиламіну від кількості діазокатіона) дало константу швидкості на тому ж рівні в межах статистичної похибки. Натомість, у разі збільшення співвідношення діазо-катіон: діетиламін спостерігалось істотне збільшення константи швидкості розкладу. За співвідношення антрахінонілдіазоній катіон: діетиламін 1:1 $k = 3 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$, 1:5 $k = 5,3 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$, а 1:10 $k = 2,3 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$.

Як видно з табл. 2, за відсутності діетиламіну константа швидкості розкладу становила $2,5 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$. Додавши каталітичні кількості діетиламіну (10 та 20 мольних відсотків діетиламіну від кількості діазоній-катіона), одержали константу швидкості розкладу в межах статистичної похибки. У разі збільшення співвідношення діазоній-катіон: діетиламін спостерігалось істотне збільшення константи швидкості розкладу. За співвідношення антрахінонілдіазоній сульфат: діетиламін 1:1 $k = 3 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$, 1:5 $k = 5,3 \cdot 10^{-4} \text{ с}^{-1}$, а 1:10 $k = 2,3 \cdot 10^{-3} \text{ с}^{-1}$.

Таблиця 2

pH $\approx$ 9	
Молярне співвідношення діазоній-катіон: діетиламін	k, с $^{-1}$
10:1	$2,3 \cdot 10^{-4}$
5:1	$2,1 \cdot 10^{-4}$
1:1	$3 \cdot 10^{-4}$
1:5	$5,3 \cdot 10^{-4}$
1:10	$2,35 \cdot 10^{-3}$

Отримані дані вказують, що діетиламін можна розглядати як каталізатор розкладу діазосполуки. Можна розглядати два варіанти такої каталітичної дії. У першому варіанті діетиламін безпосередньо впливає на розклад діазоній катіона. За другим варіантом, як проміжна сполука утворюється триазен, що швидко гідролізує з виділенням вільного азоту та заміщенням нітрогену антрахінонового фрагменту на ОН-групу. На нашу думку, імовірнішим є перебіг реакції розкладу за другим варіантом, коли збільшення надлишку діетиламіну сприяє зміщенню рівноваги діазоній-катіон $\leftrightarrow$ триазен у бік утворення останнього.

Висновки. Визначені константи швидкості розкладу антрахінонілдіазоній катіона у присутності діетиламіну та проаналізовано вплив аміну на перебіг реакції N-азосполучення під час синтезу триазенів антрахінонового ряду. Одержано нові діазоаміносполуки похідні 9,10-антрахінону, будова яких підтверджена даними ЯМР ^1H -спектроскопії.

1. Kimball D. B., Haley M. M. Triazenes: A versatile tool in organic synthesis// *Angew. Chem. Int. Ed.*, 2002, V.41, P. 3338 – 3351.
2. Iley J., Ruecroft G. Mechanism of the microsomal demethylation of 1-aryl-3,3-dimethyltriazenes // *Biochem. Pharm.*, 1990, Vol 40, No 9, P. 2123 – 2128.
3. Rouzer C.A., Sabourin M., Skinner T.L. et al. Oxidative Metabolism of 1-(2-Chloroethyl)-3-alkyl-3-(methylcarbamoyl)triazenes: Formation of Chloroacetaldehyde and Relevance to Biological Activity // *Chem. Res. Toxicol.*, 1996, 25. P. 172 – 178.
4. Foster B.J, Newell D.R, Carmichael J., Harris A. L., Gumbrell L. A., Jones M., Goodard P. M., Calvert A. H. Preclinical, Phase I and pharmacokinetic studies with the dimethylphenyltriazene CB10-277 // *Br.J. Cancer.*, 1993, V. 67, P. 362 – 368.
5. Nicolaou K. C., Boddy Ch. N. C., Hui Li, Koumbis A. E., Hughes R., Natarajan S., Jain N. F., Ramanjulu J. M., Bräse S., Solomon M. E. Total Synthesis of Vancomycin – Part 2: Retrosynthetic Analysis, Synthesis of Amino Acid Building Blocks and Strategy Evaluations // *Chem. Eur. J.*, 1999, V. 5, P. 710 – 715.
6. Bräse S., Dahmen S., Pfefferkorn M. Solid-Phase Synthesis of Urea and Amide Libraries Using the T2 Triazene Linker// *J. Comb. Chem.*, 2000, V.2, P. 710 – 715.
7. Олсуфьева Е. Н. Синтез и противоопухолевые свойства антрациклиновых антибиотиков, модифицированных по сахарному остатку // *Биоорг. Хим.*, 1992, Т. 18, № 2, С. 149 – 179.
8. Zagotto G., Supino R., Favini E., Moro S., Palumbo M. New 1,4-anthracen-9,10-dione derivatives as potential anticancer agents // *Il Farm.*, 2000, V. 55, P. 1 – 5.
9. Ling-Wei Hsin, Hui-Po Wang, Pi-Hung Kao et.al. Synthesis, DNA binding and cytotoxicity of 1,4-bis(2-aminoethylamino)anthraquinone-amino acid conjugates // *Bioorg. & Med. Chem.*, 2008, V. 16, P. 1006 – 1014.
10. Починок В. Я. Триазены. – К.: Изд-во Киевск. ун-та, 1968 – 225 с.
11. Wacker L. Ueber den Austausch der Diazogruppe durch die Amidogruppe // *Chem. Ber.*, 1902, V. 35, P. 2593 – 2602.
12. Rondestvedt C. S., Davis S. J. 1-Aryl-3,3-dialkyltriazenes as Tumor Inhibitors // *J. Org. Chem.* 1957., V. 22, P. 200 – 203.
13. Булгакова Н. А., Горностаев Л. М., Сакилиди В. Т. Синтез и структура некоторых триазенов ряда 9,10-антрахинона // *ЖОрХ.* – 2000. – Т.36. Вып.10. – С. 1519 – 1520.
14. Zollinger H. Diazotisations in Highly Concentrated Mineral Acids: The nitrosation mechanism of anilinium and hydroxylammonium ions through proton loss from the ammonio group // *Helv. Chem. Acta*, 1988. V.71., P. 1661 – 1665.
15. H. Zollinger. *Diazo Chemistry I: Aromatic and Heteroaromatic Compounds.* – Weinheim – New York – Basel – Cambridge – Tokyo., 1994. – 457 p.