

УДК 546:616-73.916

Синтез продуктов, меченных изотопом ^{13}C , для медицинской диагностики

**А. Р. Эльман, Г. А. Корнеева, Ю. Г. Носков, В. Н. Хан, Е. Ю. Шишкина,
В. М. Негримовский, Е. П. Пономаренко, Л. О. Кононов, Л. Г. Брук,
И. В. Ошанина, О. Н. Тёмкин, С. Г. Кузьмин**

АЛЕКСАНДР РЭМОВИЧ ЭЛЬМАН — кандидат химических наук, руководитель проекта ООО «Ростхим». E-mail: alexandr@spektr-ttt.ru

ГАЛИНА АЛЕКСАНДРОВНА КОРНЕЕВА — доктор химических наук, профессор, заведующая лабораторией ООО «Объединенный центр исследований и разработок». E-mail: KorneevaGA@rn-rdc.ru

ЮРИЙ ГЕННАДЬЕВИЧ НОСКОВ — кандидат химических наук, ведущий научный сотрудник ООО «Объединенный центр исследований и разработок». E-mail: NoskovYG@rn-rdc.ru

ВИКТОР НИКОЛАЕВИЧ ХАН — кандидат химических наук, заведующий лабораторией ГНЦ «НИОПИК». E-mail: khanir_51@mail.ru

ЕЛЕНА ЮРЬЕВНА ШИШКИНА — кандидат химических наук, старший научный сотрудник ГНЦ «НИОПИК». E-mail: elenachichkina@mail.ru

ВЛАДИМИР МИХАЙЛОВИЧ НЕГРИМОВСКИЙ — кандидат химических наук, заведующий лабораторией ГНЦ «НИОПИК». E-mail: vnegrimovsky@mail.ru

ЕЛЕНА ПАВЛОВНА ПОНОМАРЕНКО — кандидат химических наук, старший научный сотрудник ГНЦ «НИОПИК». E-mail: elenapnt@gmail.com

ЛЕОНИД ОЛЕГОВИЧ КОНОНОВ — кандидат химических наук, старший научный сотрудник Института органической химии им. Н.Д. Зелинского РАН. E-mail: kononov@ioc.ac.ru

ЛЕВ ГРИГОРЬЕВИЧ БРУК — доктор химических наук, заведующий кафедрой Общей химической технологии ВПО «Московский государственный университет тонких химических технологий им. М.В. Ломоносова» (МИТХТ им. М.В. Ломоносова). E-mail: lgbruk@mail.ru

ИРИНА ВАЛЕРЬЕВНА ОШАНИНА — кандидат химических наук, доцент кафедры Химии и технологии основного органического синтеза (ХТООС) МИТХТ им. М.В. Ломоносова. E-mail: oshanina_i@mail.ru

ОЛЕГ НАУМОВИЧ ТЁМКИН — доктор химических наук, профессор кафедры ХТООС МИТХТ им. М.В. Ломоносова. E-mail: olegtemkin@mail.ru

СЕРГЕЙ ГЕОРГИЕВИЧ КУЗЬМИН — заведующий Отделом функциональных красителей ГНЦ «НИОПИК», заместитель директора ГУП г. Москвы «МНКЦ «Интермедбиофизхим». E-mail: skuzmin@co.ru

Введение

Соединения, меченные стабильным изотопом ^{13}C , не представляющие радиационной опасности для человека, находят все более широкое применение для диагностики различных заболеваний методами дыхательных тестов [1, 2], магнитного резонанса [3, 4], а также при изучении фармакокинетики в ходе разработки новых лекарственных средств [5]. Стабильные изотопы вводились в медицинскую практику одновременно с развитием радиоизотопных методов [6], которые получили весьма широкое распространение в диагностике и лечении самых разных заболеваний.

При проведении дыхательных тестов препарат, содержащий изотоп ^{13}C , вводят в организм в виде раствора или с пищей. В организме препарат метаболизирует с образованием диоксида ^{13}C -углерода ($^{13}\text{CO}_2$), который кровью переносится в легкие и надежно регистрируется в выдыхаемом воздухе пациента с помощью масс-спектрометра или ИК анализатора [2]. Классическим примером является уреазный дыхательный тест на зараженность желудочно-кишечного тракта (ЖКТ) бактерией *Helicobacter pylori* [1, 2, 7, 8]. Этот тест основан на разложении ^{13}C -мочевины ферментом уреазой, обнаруженной в бактерии, с образованием $^{13}\text{CO}_2$ и аммиака. О зараженности ЖКТ судят по превышению уровня $^{13}\text{CO}_2$ в выдыхаемом воздухе по сравнению с природным содержанием (~1,1%). В 1996 г. этот тест был одобрен FDA (США) и ЕМЕА (Евросоюз) и принят в качестве «Золотого стандарта» диагностики бактериального заражения *H. pylori* [9], вызывающего многочисленные заболевания ЖКТ вплоть до рака желудка.

В других дыхательных тестах с ^{13}C -препаратами, как правило, сравнивают фармакокинетику выдыхаемого пациентом $^{13}\text{CO}_2$ с такой же зависимостью для здорового человека [1, 2]. Разработаны математические модели и количественные критерии диагностики состояния различных органов на базе результатов изучения фармакокинетики выдыхаемого $^{13}\text{CO}_2$ [10, 11]. С помощью ^{13}C -препаратов выявляют заболевания желудка, кишечника, печени, поджелудочной железы, болезни кровеносной, эндокринной и легочной систем, центральной нервной системы, обнаруживают опухоли. Важным достоинством ^{13}C -дыхательных тестов является неинвазивность и безопасность. Кроме того, высокая чувствительность и специфичность (до 100%) [10, 12] часто делают их незаменимыми при диагностике опасных заболеваний,

в том числе на ранних стадиях, а также при оценке функционального состояния органов и тканей. Следует отметить, что кроме медицины ^{13}C -продукты применяют и в других областях, в частности, в криминалистике и судебной экспертизе, антидопинговом контроле [13], при изучении процессов эволюции живых организмов [14], в агрохимии [15], космических исследованиях [16] и др.

В зарубежной медицинской практике наибольшее применение находят ^{13}C -мочевина, 1- ^{13}C -каприловая кислота, метацетин (^{13}C -метокси), 1- ^{13}C -октаноат натрия, триоктаноин ($^{13}\text{C}_3$ -карбонил), 1- ^{13}C -D-глюкоза и другие ее ^{13}C -изотопомеры, ^{13}C -бикарбонат натрия, ^{13}C -формиат натрия, тимидин (^{13}C -метил), 1- ^{13}C -D-галактоза, 1- ^{13}C -ацетат натрия, смешанные триглицериды ($^{13}\text{C}_3$ -карбонил) и ряд других препаратов со степенью ^{13}C -изотопного обогащения не менее 99%. Выпускаются сотни наименований ^{13}C -продуктов, цены которых достигают 1000 долл. и более за 1 г вещества [17, 18], а стоимость дыхательного теста (75—100 мг препарата) составляет около 100 долл. По некоторым оценкам мировое потребление только ^{13}C -мочевины превысило 1000 кг/год, в США ежегодно проводится 5—7 млн. ^{13}C -дыхательных тестов [19].

В России отсутствует массовая стабильно-изотопная медицинская диагностика, поскольку нет официально зарегистрированных диагностических препаратов, приборов и методов проведения медицинских тестов. В период 2007—2012 гг. при содействии Правительства Москвы развернулись работы по организации отечественной стабильно-изотопной диагностики опасных заболеваний на базе собственных разработок диагностических препаратов, приборов и медицинских методик. Ввиду высокой стоимости изотопной продукции, эти работы стали возможны только благодаря наличию в России производства высококачественного изотопного сырья — оксидов ^{13}C -углерода ($^{13}\text{CO}_2$ и ^{13}CO) с химической и изотопной чистотой более 99%.

Разрабатываемые синтезы должны обеспечить введение изотопа ^{13}C в определенное положение молекулы продукта с минимальными потерями изотопного сырья. Важной задачей является разработка способов определения изотопной чистоты (степени изотопного обогащения) получаемых продуктов.

В настоящем обзоре приведены основные результаты разработки синтезов наиболее важных ^{13}C -продуктов. Отметим, что все разработанные

методы синтеза являются оригинальными, до наших работ публикации о таких синтезах практически отсутствовали. Впервые в нашей стране созданы основы эффективной технологии производства широкой номенклатуры продуктов, меченных одним или несколькими атомами ^{13}C , со степенью изотопного обогащения не менее 99%, предназначенных для медицины и других областей.

Получение ^{13}C -мочевины

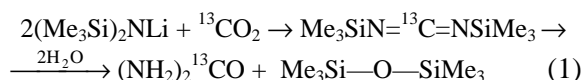
^{13}C -мочевина — основной продукт, используемый в медицинской стабильно-изотопной диагностике. В развитых странах (Германия, Франция, Япония) выполняются в год сотни тысяч ^{13}C -урезных дыхательных тестов, основанных на применении ^{13}C -мочевины.

Ниже приведен краткий обзор методов синтеза мочевины и оценки их применимости для получения ^{13}C -мочевины медицинского назначения. При этом учитывалось, что помимо обязательного соблюдения требования к безопасности лекарственных средств, синтеза должны быть малостадийными, иметь низкий коэффициент расхода изотопного сырья, а также обеспечивать возможность сбора его непрореагировавших количеств для повторного использования.

Промышленный метод синтеза мочевины на основе реакции CO_2 с аммиаком, осуществляемый в две стадии через образование промежуточного карбамата аммония, [20] неприемлем для получения ^{13}C -мочевины в связи с жесткими условиями синтеза (180—230 °C и 120—250 атм), а также из-за обратимости реакции, что вызывает значительные потери $^{13}\text{CO}_2$.

Так называемые цианидные методы синтеза ^{14}C -мочевины [21], основанные на получении из $^{14}\text{CO}_2$ ^{14}C -цианамиды бария или ^{14}C -цианида калия, многостадийны (до пяти химических стадий с участием метки ^{14}C , в том числе высокотемпературные операции), поэтому непригодны для эффективного получения ^{13}C -мочевины.

Опубликован двустадийный метод получения ^{13}C -мочевины [22], основанный на карбоксилировании гексаметилдисилазида лития с последующим гидролизом образовавшегося бис(триметилсил) [^{13}C]карбодиимида:



К недостаткам этого метода следует отнести низкий выход ^{13}C -мочевины в расчете на изотоп-

ное сырье (80—90% на второй стадии), трудная доступность сырья, необходимость использования инертной атмосферы и проведение ректификации на первой стадии, что создает существенные проблемы при разработке промышленной технологии.

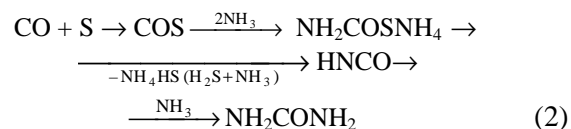
Один из традиционных методов получения мочевины из CO , хлора и аммиака через стадию образования фосгена [20] также непригоден для производства ^{13}C -мочевины из-за применения хлора, токсичности фосгена, а также из-за проведения процесса в газовой фазе и возможности кристаллизации мочевины в технологических трубопроводах.

Мочевина может быть получена при взаимодействии CO и оксидов азота (NO_x) на гетерогенных катализаторах (Rh, Pd и Pt) при температуре 150—200 °C [23]. Однако низкий выход мочевины (6—8%), использование большого избытка CO ($\text{CO}/\text{NO} = 6$), водорода, а также образование значительных количеств карбоната аммония делает эти способы малопривлекательными для получения ^{13}C -мочевины.

В ряде работ [24—27] описан прямой синтез мочевины и ее производных из CO и аммиака с использованием катализаторов на основе металлов переменной валентности. Однако рекомендуемые в качестве катализаторов комплексы рутения имеют весьма низкую активность и обеспечивают малый выход мочевины. С использованием наиболее каталитически активных сульфидов Ni и W выход мочевины составил 27,4% (в расчете на NH_3) [27].

Наилучшие результаты по синтезу мочевины из CO и NH_3 , на наш взгляд, получены при использовании серы или селена в качестве окислителя. При мольном соотношении $\text{CO}:\text{NH}_3:(\text{S}+\text{H}_2\text{S})=1:2,8:1,3$ выход мочевины, получаемой в автоклаве емкостью 1,8 л (100—105 °C, 20—30 атм, растворитель — метанол) за 2,25 ч, составил 91% [28].

Изучив процесс методом ИК спектроскопии, авторы предложили следующий механизм реакции [29]:

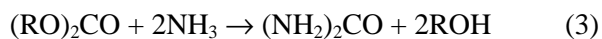


Лучшим из испытанных растворителей оказался метанол, обеспечивающий высокую концентрацию реагентов и наиболее просто удаляемый по окончании процесса.

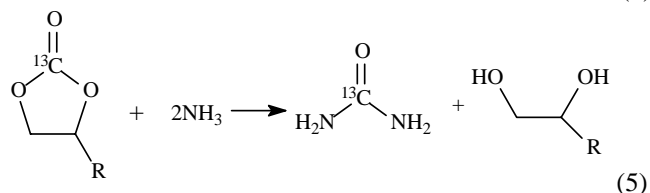
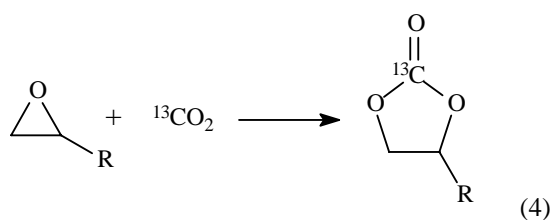
Замена серы на селен позволила значительно смягчить условия проведения реакции: при $p_{\text{CO}} =$

1 атм, 25 °С выход мочевины за 5,5 ч составил 94% [30]. При добавлении кислорода к смеси СО и NH₃ реакция протекает в каталитическом режиме [31]. Используя в качестве катализатора SeO₂ при мольном соотношении СО : NH₃ : O₂=1,5 : 1,5 : 1,0, удалось получить мочевины с выходом 86% всего за 0,5 ч (30 °С, 50 атм, растворитель — 2,4-лутидин). Удивительно, что замена растворителя на метанол привела к резкому снижению каталитической активности SeO₂: выход мочевины снизился до 5%. При использовании Se в качестве катализатора из анилина в сходных условиях была получена дифенилмочевина с выходом 100%.

Для производства ¹³С-мочевины на базе одного из видов имеющегося изотопного сырья — ¹³СО₂ большого внимания заслуживают методы, основанные на аммонолизе органических карбонатов [32, 33]:



Что касается синтеза исходных карбонатов, то получение их при непосредственном взаимодействии спиртов с СО₂ весьма затруднено из-за неблагоприятной термодинамики процесса (выход продукта в широком интервале температур не превышает 2%) [34]. В то же время циклические карбонаты легко и с хорошей селективностью образуются при карбоксилировании этиленоксида [35] или пропиленоксида [36]. Известно также, что взаимодействие этиленкарбоната с аминами в присутствии СаО [37] или без катализатора приводит к соответствующим карбамидам. Таким образом, синтез ¹³С-мочевины предполагает реализацию двух последовательных превращений:



R = H, CH₃

Гетерогенные катализаторы — щелочь, нанесенная на активированный уголь [35], хлориды кальция и магния [38] — обеспечивают получение этилен-

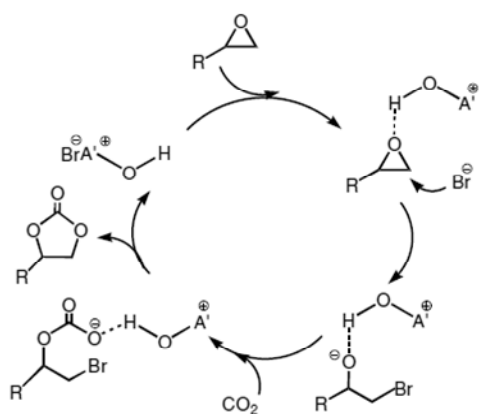
карбоната по реакции (4) только в жестких условиях: 180—210 °С, 100—150 атм; при этом выход не превышает 85%. Гораздо эффективнее ионообменные смолы с привитыми четвертичными аммониевыми солями (105 °С, 16 атм): выход этиленкарбоната достигает 92% при селективности около 100% [39]. Однако такие импортные [39] ионообменные смолы могут оказаться труднодоступными.

Среди гомогенных катализаторов для реакций эпоксидов с СО₂ известны пиридин, акридин, триэтиламин (180—200 °С, 50—150 атм), однако по активности они не превосходят более удобные гетерогенные аналоги. Намного эффективнее аммониевые и фосфониевые соли [40, 41], а также ионные жидкости [42], которые, кроме того, позволяют снизить температуру реакции, что особенно важно для предотвращения разложения или полимеризации эпоксидов.

Эффективными катализаторами синтеза этиленкарбоната из этиленоксида и СО₂ являются соли переходных металлов в сочетании с такими основаниями Льюиса, как амины, пиридины и фосфины [43, 47—50] или в сочетании с ониевыми солями [44]. Так, смешанные галогениды цинка и имидазолия катализируют реакцию в зависимости от температуры (80—140 °С) со скоростью 1000—5000 ч⁻¹. Добавление ионных жидкостей к таким катализаторам увеличивает их активность до 20000 ч⁻¹ (140 °С, 35 атм), а выход в отдельных случаях приближается к количественному [45].

Большой материал по синтезу циклических карбонатов из эпоксидов и СО₂ представлен в обзоре [46], где показана эффективность использования четвертичных солей аммония и ионных жидкостей на основе имидазолия. Наилучшую активность проявляют комплексы бромида цинка [46—50], в качестве лигандов эффективны алифатические и ароматические фосфины и производные пиридина. Механизм процесса карбоксилирования эпоксидных соединений в присутствии ионных жидкостей с получением циклических карбонатов можно представить схемой (6) [42].

Поскольку галогенидные комплексы цинка позволяют получать циклические карбонаты с высокими выходами в относительно мягких условиях (100 °С, 30—35 атм), именно они и были выбраны нами для разработки синтеза ¹³С-мочевины на основе ¹³СО₂. Вместе с тем с учетом возможности использования альтернативного изотопного сырья — ¹³СО — был также разработан процесс получения ¹³С-мочевины одностадийным методом окислительного карбонилирования аммиака.



(6)

где $[A' \oplus -OH]Br^\ominus$ — ионная жидкость.

Получение ^{13}C -мочевины на базе $^{13}CO_2$

Необходимо отметить, что использование этиленоксида на первой стадии процесса (4) накладывает ряд ограничений в связи с его взрывоопасностью [35, 44], а также из-за образования токсичного этиленгликоля на второй стадии (5). Применение пропиленоксида исключает эти недостатки, поскольку данный реагент не склонен к взрывному саморазложению, а образующийся второй продукт — пропиленгликоль разрешен к применению в качестве пищевой добавки E1520 [51]. В рамках разработанного нами способа получения ^{13}C -мочевины [52] предложен процесс на базе пропиленоксида [53].

Наиболее эффективным катализатором для стадии карбоксилирования (4) α -эпоксидных соединений оказалась система $ZnBr_2$ /хлорид 1-бутил-3-метилимидазолия, обеспечивающая получение ^{13}C -пропиленкарбоната с выходом 98,8% в расчете на $^{13}CO_2$ (120 °С, 13—15 атм пропиленоксид: $ZnBr_2$ = 1500:1); частота оборотов катализатора составляет 650 ч⁻¹.

Следует подчеркнуть, что процесс проводят без использования дополнительного растворителя. Замена этиленоксида на пропиленоксид позволяет значительно снизить давление на стадии карбоксилирования за счет меньшей летучести пропиленоксида и более высокой растворимости в нем диоксида углерода. Кроме того, использование данного реагента позволяет повысить производительность этой стадии более чем в пять раз, поскольку ограничения по загрузке оборудования, связанные с взрывоопасностью этиленоксида, в данном случае отсутствуют.

Непрореагировавший $^{13}CO_2$ (при синтезе ^{13}C -мочевины) собирают для повторного использования, а полученный ^{13}C -пропиленкарбонат очищают вакуумной дистилляцией, отбирая фракцию с т. кип. 70—74 °С при давлении 0,05 мм рт.ст.

Вторую стадию — аммонолиз пропиленкарбоната (5) также проводят в отсутствие дополнительного растворителя для увеличения производительности процесса. Синтез ведут в том же реакторе при температуре 130 °С и давлении 50—60 атм, периодически добавляя аммиак. Готовый продукт, растворенный в пропиленгликоле, после удаления непрореагировавшего аммиака осаждают тетрагидрофураном и очищают путем обработки диэтиловым эфиром и ацетонитрилом. Полученная мочевина содержит лишь небольшие примеси растворителей (менее 0,2%), а также следы 2-гидроксипропилмочевины. Выход ^{13}C -мочевины в расчете на загруженный $^{13}CO_2$ составляет 94,04%, чистота 99,7%.

Определение изотопной чистоты ^{13}C -мочевины представляет определенные трудности из-за невозможности применения хромато-масс-спектрометрии, поскольку продукт нелетучий, а также метода ЯМР из-за крайне низкой интенсивности сигнала ^{15}N и малого значения константы спин-спинового взаимодействия протонов с ядрами ^{13}C . Поэтому был разработан метод превращения ^{13}C -мочевины в ^{13}C -пропиленкарбонат с его последующим анализом методом хромато-масс-спектрометрии. ^{13}C -пропиленкарбонат получали по реакции ^{13}C -мочевины с пропиленгликолем в присутствии оксида цинка (в запаянной ампуле) при 170 °С. Расчет проводили по интенсивностям пиков m/z 87 и 88 (ионы $[M-CH_3]^+$ в обычном и меченом пропиленкарбонате). Изотопная чистота ^{13}C -мочевины (по анализу полученного из нее ^{13}C -пропиленкарбоната) составляет $99,7 \pm 0,2\%$ (ат.), что соответствует изотопной чистоте исходного $^{13}CO_2$ $99,3 \pm 0,1\%$ (ат.).

Таким образом, процесс карбоксилирования пропиленоксида с последующим аммонолизом пропиленкарбоната позволяет на базе промышленного $^{13}CO_2$ получать ^{13}C -мочевину высокого качества (более 99% химической и изотопной чистоты) с минимальными потерями изотопной метки [53]. Но поскольку этот процесс двухстадийный, причем производительность второй стадии значительно меньше, чем первой стадии и при этом образуется примесь 2-гидроксипропилмочевины, а также с учетом возможности использования в будущем ^{13}CO как альтернативного и более дешевого

(по сравнению с $^{13}\text{CO}_2$) изотопного сырья, был разработан также «прямой» метод синтеза ^{13}C -мочевины путем окислительного карбонилирования аммиака.

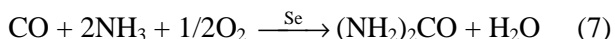
Получение ^{13}C -мочевины на базе ^{13}CO

Согласно представлениям о механизме каталитического процесса окислительного карбонилирования аммиака [54—56], получение мочевины по реакции CO с NH_3 в присутствии селена сопровождается его восстановлением с образованием COSe , H_2Se и других соединений Se^{2-} . В предварительных экспериментах [57] было показано, что восстановленные формы селена не способствуют дальнейшему проведению реакции. Для обеспечения каталитического режима протекания процесса карбонилирования аммиака и реокисления Se^{2-} в Se^0 или более высоковалентные формы в реактор добавляли кислород. При многократной подаче CO и кислорода селен полностью восстанавливает свою активность. Растворитель тетрагидрофуран/метанол обеспечивает полную гомогенность реакционной массы (включая растворение соединений селена).

В присутствии кислорода селен — весьма эффективный катализатор [58], он обеспечивает получение мочевины с выходом 99,3% в расчете на загруженный CO (45°C , 15 атм CO , $\text{Se}:\text{CO}:\text{O}_2 = 1:120:60$), частота оборотов катализатора достигает 635 ч^{-1} , реакция завершается за 20 мин.

Установлено также, что CO и кислород расходуются практически полностью: их остаточная доля не превышает 0,2% от начального объема. Метод масс-спектрометрии с электрораспылением (ESI-MS) показал, что мочевина в конечной реакционной системе содержит не более 1% побочных продуктов (олигомеры мочевины). Содержание CO_2 в газовой фазе после окончания процесса составляет 0,6%. Таким образом, процесс характеризуется высокой селективностью.

Уравнение данной каталитической реакции можно представить в виде:



Изучение влияния состава растворителя показало, что максимальный выход продукта (~100%) обеспечивается при объемном соотношении тетрагидрофуран:метанол=1:1, а при увеличении содержания метанола снижается до 71,2%. Зависимость выхода мочевины и скорости реакции от соотношения кислорода и CO в исходном газе имеет экстремальный характер с максимумом в

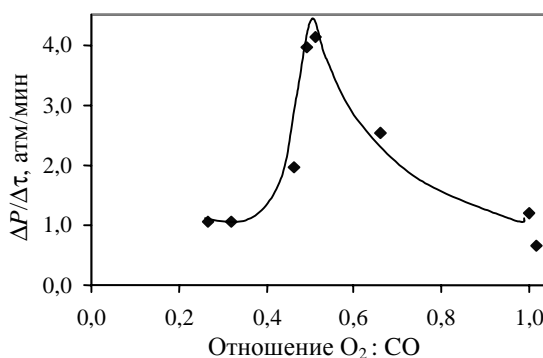


Рис. 1. Влияние соотношения $\text{O}_2:\text{CO}$ на скорость суммарного поглощения газов в реакции окислительного карбонилирования аммиака.

Условия реакции: NH_3 — 0,64 моль; CO — 15 атм (0,08 моль); Se (катализатор) — 0,65 мг-ат.; 45°C

точке $\text{O}_2:\text{CO}=1:2$ (рис. 1), что подтверждает стехиометрию реакции (уравнение 7).

Полученную мочевину очищали от остатков Se на колонках с активированным углем и ионообменными смолами. Содержание органических примесей (по данным спектроскопии ^1H ЯМР в растворе DMCO-d_6) не более 0,2%.

Обнаружен значительный экзотермический тепловой эффект реакции образования мочевины [58]. В течение непродолжительной выдержки реакционной массы без кислорода при 45°C ее температура оставалась постоянной (рис. 2), однако после подачи кислорода температура реакционной смеси быстро повышалась одновременно с уменьшением давления в автоклаве и, достигнув максимума (107°C), снижалась до исходного зна-

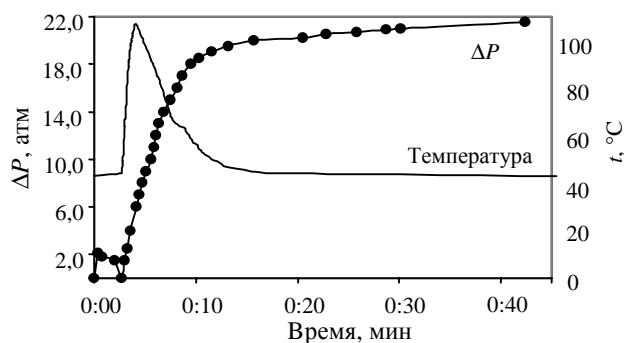


Рис. 2. Изменение давления и температуры в автоклаве при окислительном карбонилировании аммиака.

Условия реакции: NH_3 — 0,64 моль; CO — 15 атм (0,08 моль); O_2 — 8,5 атм (0,04 моль); Se (катализатор) — 0,66 мг-ат.; 45°C

чения. К этому моменту (~20 мин) реакция практически завершилась: суммарное снижение давления составляло 95% конечного значения.

Расчеты показали, что тепловой эффект каталитической реакции окислительного карбонилирования аммиака более чем в четыре раза превышает тепловой эффект некаталитической реакции. Однако в выбранных условиях тепловыделение в ходе реакции не приводило к заметному росту давления в автоклаве, что, очевидно, связано с быстрым поглощением СО и кислорода. Кроме того, разогрев реакционной массы можно значительно уменьшить, если проводить процесс при более низких температурах.

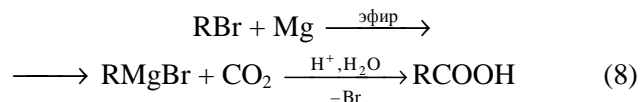
Полученные результаты легли в основу одностадийной технологии получения ^{13}C -мочевина в жидкой фазе методом каталитического окислительного карбонилирования аммиака [59]. При проведении процесса в сравнительно мягких условиях ($p_{\text{общ}} \approx 30$ атм, 45°C) его производительность достаточно высока: съём ^{13}C -мочевина с единицы реакционного объема ~530 г/(л·ч). Селективность процесса близка к 100%, что обуславливает высокое качество целевого продукта — мочевины. Кроме того, достигается практически полное поглощение исходного ^{13}CO , что исключает необходимость сбора его остаточного количества и повторного использования. Единственным побочным продуктом является вода.

Получение 1- ^{13}C -каприловой кислоты, 1- ^{13}C -октаноата натрия и ($^{13}\text{C}_3$ -карбонил)триоктаноина

1- ^{13}C -каприловую кислоту и 1- ^{13}C -октаноат натрия применяют для диагностики моторно-эвакуаторной функции желудка (выведение твердой пищи), нарушения печеночного метаболизма, а также некоторых форм диабета; ($^{13}\text{C}_3$ -карбонил)триоктаноин используют для диагностики усвояемости жиров (функция поджелудочной железы) [1, 2]. Существуют и другие диагностические средства, являющиеся производными 1- ^{13}C -каприловой кислоты, в том числе эфиры глицерина с 1- ^{13}C -олеиновой и 1- ^{13}C -каприловой кислотами, а также холестерил[1- ^{13}C]октаноат [1].

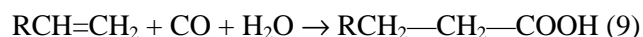
Наиболее очевидными методами получения 1- ^{13}C -каприловой кислоты на основе имеющегося изотопного сырья ($^{13}\text{CO}_2$ и ^{13}CO) являются реакция Гриньяра с использованием гептилбромида, оксосинтез на базе гептена-1 с последующим окислением 1- ^{13}C -каприлового альдегида, а также каталитическое гидрокарбонилирование гептена-1.

Традиционный способ получения жирных кислот — метод Гриньяра — основан на взаимодействии алкилгалогенида с реактивом Гриньяра и CO_2 [60]:



Выход кислоты в расчете на алкилбромид составляет от 80 до 95%. К недостаткам метода можно отнести необходимость приготовления реактива Гриньяра, применение инертной атмосферной среды, использование больших количеств диэтилового эфира, соблюдение определенного температурного режима (предварительное охлаждение до -60°C с последующим медленным нагреванием), а также образование побочных продуктов (включая спирты и углеводороды) [61] и необходимость сбора и повторного использования непрореагировавшего $^{13}\text{CO}_2$. Метод относительно сложен и не всегда воспроизводим.

Хорошо известен способ получения насыщенных карбоновых кислот нормального строения по реакции каталитического жидкофазного гидрокарбонилирования α -олефинов [62]:



Наилучшими катализаторами для этой реакции можно считать комплексы палладия с бидентатными фосфиновыми лигандами [63]. Весьма эффективны также системы PdX_2L_2 с более доступными лигандами (X — галоген или ацетат, L — замещенный фосфин), а также содержащие слабо-связанный лиганд — дибензилиденацетонат или сульфокислоту (MeSO_3H или TsOH) [64, 65].

Такие системы позволяют получать до 98% кислоты линейного строения, в том числе каприловую кислоту из гептена-1 с небольшой примесью (2%) 2-метилэнантовой кислоты [66].

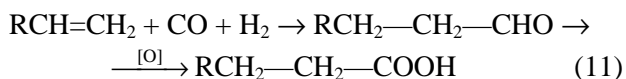
Производительность катализатора составляет 30 кг/(моль кат.ч) (150°C , 2—5 атм, растворитель — пропионовая кислота: *o*-ксилол = 2:1), что вполне достаточно для наработки необходимых количеств меченой кислоты. К достоинствам метода следует отнести его простоту, одностадийность и достаточно высокую селективность. К тому же нет сведений о том, что примесь 2-метилэнантовой кислоты в меченой каприловой кислоте недопустима, и этот вопрос может быть решен только при проведении медицинских испытаний.

Известен ряд способов получения насыщенных кислот нормального строения карбонилированием спиртов [67, 68] и алкилгалогенидов [69, 70] в растворах металлокомплексных катализаторов:



Однако выходы продуктов невелики [71, 72]. Кроме того, спирты в ходе процесса частично подвергаются дегидратации с образованием олефинов [73, 74], что приводит к получению побочных 2-алкилзамещенных изомерных кислот.

В последнее время весьма активно развиваются высокоселективные методы гидроформилирования олефинов до альдегидов нормального строения, которые легко могут быть окислены в соответствующие кислоты:



Появились родиевые каталитические системы на основе хелатирующих фосфинов и фосфитов, позволяющие даже из «внутренних» олефинов получать альдегиды нормального строения с очень высокой селективностью [75]. Так, комплексы родия с бидентатными фосфитными лигандами обеспечивают гидроформилирование «внутренних» октенон и пентена-2 с региоселективностью по *n*-альдегидам 95—99% [76]. При этом активность катализаторов превышает 13000 ч⁻¹ [77]. Таким образом, 1-¹³C-каприловая кислота может быть получена методом высокоселективного оксосинтеза с использованием гептена-1 и последующего окисления 1-¹³C-каприлового альдегида.

Получение 1-¹³C-каприловой кислоты методом оксосинтеза

Гидроформилирование гептена-1 проводят с использованием высокоселективной каталитической системы, состоящей из комплекса Rh(CO)₂(асас), трифенилфосфина и дифосфита 2,2'-бис-[(1,1'-дифенил-2,2'-диил)фосфито]-3,3',5,5'-тетра-*трет*-бутил-1,1'-дифенила [78] в качестве одного из лигандов. Процесс осуществляют в растворе гептена-1 при мольном соотношении компонентов Rh:Ph₃P:дифосфит:гептен-1=1:14:4:14100, температуре 90 °С и давлении смеси ¹³CO:H₂ (1:1) 20 атм. Региоселективность стадии по выделенному 1-¹³C-октаналу составляет 98,9%, выход реакции в расчете на ¹³CO 92,3%. Непрореагировавший газ собирают для повторного использования в блок подготовки синтез-газа.

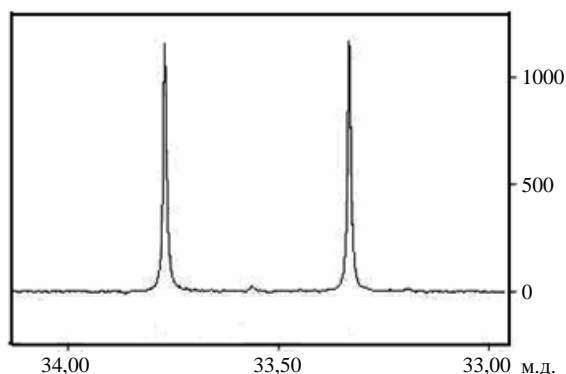


Рис. 3. Область спектра ¹³C{¹H}-ЯМР 1-¹³C-каприловой кислоты, отвечающая α-метиленовой группе

Мягкое окисление 1-¹³C-октанала кислородом при температуре 45 °С приводит к получению 1-¹³C-каприловой кислоты с чистотой 98,9%; общий выход в расчете на ¹³CO ~84%.

Степень изотопного обогащения (изотопную чистоту) 1-¹³C-каприловой кислоты можно определить методом ¹³C ЯМР. Сигналы α-метиленовых атомов углерода испытывают сильное расщепление (¹J_{C-C}=55,08 Гц) в результате спин-спиновой взаимодействия с атомами ¹³C высокообогащенной карбоксильной группы. При этом «остаточный» синглет в области 33,5 м.д. характеризует примесь немеченой кислоты в целевом продукте (рис. 3).

Изотопную чистоту (ИЧ) ¹³C-карбоксильной группы определяют по интегральным интенсивностям сигналов α-метиленовых атомов углерода в меченой (дублет, I_д) и немеченой (синглет, I_с) кислоте:

$$\text{ИЧ} = \frac{I_{\text{д}}}{I_{\text{д}} + I_{\text{с}}} \cdot 100(\%)$$

Метод, основанный на гидроформилировании гептена-1, позволяет получить 1-¹³C-каприловую кислоту хорошего качества (химическая и изотопная чистота ~99%) с высокой производительностью стадии оксосинтеза (число оборотов катализатора превышает 10000). В то же время необходимость окисления промежуточного 1-¹³C-октанала усложняет процесс, увеличивает потери изотопной метки, вызывает образование примесей, характерных для процессов радикального окисления альдегидов. Помимо указанных причин, необходимость предварительной подготовки синтез-газа также стимулировала

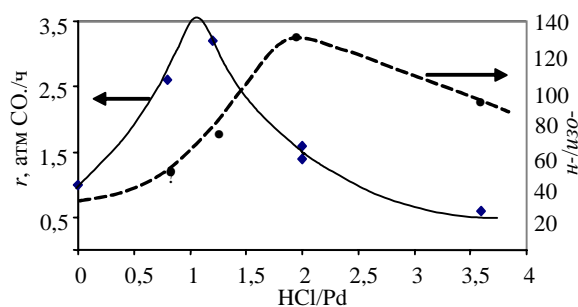


Рис. 4. Влияние мольного соотношения $[HCl]/[PdCl_2(PPh_3)_2]$ на скорость и селективность реакции гидрокарбоксилирования гептена-1.

Условия реакции: 150 °С, 6 атм СО, P/Pd 50:1, $[PdCl_2(PPh_3)_2] = 1,15 \cdot 10^{-2}$ моль/л

разработку более простой технологии одностадийного синтеза $1-^{13}C$ -каприловой кислоты на базе ^{13}CO .

Получение $1-^{13}C$ -каприловой кислоты гидрокарбоксилированием гептена-1

Ранее [66] нами был разработан одностадийный способ получения каприловой кислоты по реакции гидрокарбоксилирования гептена-1 в присутствии каталитической системы $PdCl_2(PPh_3)_2/PPh_3$ (см. уравнение 9). В качестве растворителя использовали пропионовую кислоту и *o*-ксилол. Этот способ характеризуется высоким выходом и селективностью 98%. Однако изотопная чистота полученной $1-^{13}C$ -каприловой кислоты составляет лишь 78,8%, в то время как требуется чистота на уровне 99%. Анализ литературных данных показал, что причина может заключаться в природе растворителя.

Известно, что карбоновые кислоты в условиях процессов карбонилирования олефинов (см. уравнения 9 и 11) в растворах комплексов палладия и родия могут подвергаться декарбонилированию с выделением СО [79]. Специальными экспериментами установлено, что в процессе [66] немеченый СО, образующийся при разложении пропионовой кислоты (компонент растворителя, см. выше), также взаимодействует с исходным гептеном-1 с образованием немеченой каприловой кислоты, что уменьшает изотопную чистоту целевого продукта. Поэтому $1-^{13}C$ -каприловую кислоту с высокой изотопной чистотой необходимо синтезировать в растворителе, не содержащем карбонильных соединений, — в диоксане либо в его смеси с ароматическими углеводородами [80].

Выяснилось также, что добавление в реакционный раствор HCl примерно в эквимольном количестве по отношению к комплексу палладия позволяет значительно увеличить скорость процесса и еще более повысить его селективность (отношение кислот C_8 нормального (*n*-) и разветвленного (*изо*-) строения) в сравнении со способами [66] и [80] (рис. 4). Полученные результаты позволили значительно уменьшить необходимый избыток свободного фосфина PPh_3 в каталитической системе с сохранением высокой селективности реакции по *n*-кислоте.

По результатам исследования реакции синтеза $1-^{13}C$ -каприловой кислоты из гептена-1 были рекомендованы каталитические системы $PdCl_2(PPh_3)_2/PPh_3$ либо $Pd(OAc)_2(PPh_3)_2/PPh_3$, которые позволяют при мольных соотношениях P/Pd 20:1 и HCl/Pd 1,5:1 получать $1-^{13}C$ -каприловую кислоту с изотопной чистотой и селективностью на уровне 99% (140—160 °С, 10—15 атм ^{13}CO). Важным достоинством процесса является практически полное использование дорогого сырья ^{13}CO — до 98,3%, что исключает необходимость сбора его остаточного количества и повторного применения. Удельная производительность (на единицу объема реакционной массы) данного одностадийного метода составляет 52 г/(л·ч).

Получение ($^{13}C_3$ -карбонил)триоктаноина и $1-^{13}C$ -октаноата натрия

($^{13}C_3$ -карбонил)триоктаноин — полный эфир глицерина и $1-^{13}C$ -каприловой кислоты — получали методом этерификации. Известной проблемой синтеза полных эфиров глицерина является сложность этерификации его средней гидроксильной группы [81], а также обратимость процесса и возможность гидролиза продукта в условиях кислотного или основного катализа. Поэтому для повышения результативности синтеза использовали каталитические количества тетрабутоксититана в мольном отношении к глицерину 1:330, а также удаляли образующуюся воду путем азеотропной отгонки. Эти приемы позволили разработать процесс с достаточно низкой нормой расхода $1-^{13}C$ -каприловой кислоты — 1,1 г на 1 г $^{13}C_3$ -триоктаноина (при теоретическом значении 0,92). Содержание основного вещества составило 99%.

Для повышения степени использования $1-^{13}C$ -каприловой кислоты промежуточные фракции, образующиеся на стадии выделения готового $^{13}C_3$ -триоктаноина, подвергают гидролизу и получен-

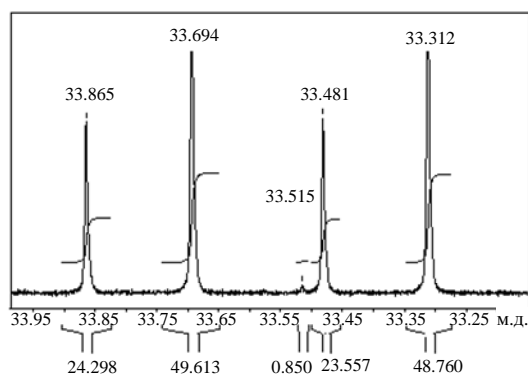


Рис. 5. Область спектра $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ -ЯМР ($^{13}\text{C}_3$ -карбонил)триоктаноина, отвечающая α -метиленовым группам.

Под пиками указаны относительные значения интенсивностей сигналов

ную кислоту направляют на синтез $1\text{-}^{13}\text{C}$ -октаноата натрия методом нейтрализации водным раствором щелочи. Такой подход обеспечивает выход продукта 93% в расчете на $1\text{-}^{13}\text{C}$ -каприловую кислоту с чистотой 99,2%.

Как и в случае $1\text{-}^{13}\text{C}$ -каприловой кислоты, сигналы α -углеродных атомов октильных радикалов, связанных с карбонильными атомами углерода ^{13}C ($^{13}\text{C}_3$ -карбонил)триоктаноина, расщепляются в дублеты с константой спин-спинового взаимодействия $J_{\text{C-C}}=55$ Гц, что позволяет надежно определять степень изотопного обогащения продукта. На рис. 5 приведен участок спектра ^{13}C -ЯМР для α -метиленовых атомов углерода обогащенного триоктаноина, который показывает, что интенсивность дублета α -углеродов «боковых» октильных групп примерно вдвое выше интенсивности аналогичного дублета «среднего» радикала C_8 . По соотношению интегральных интенсивностей «остаточного» синглета немеченого триоктаноина (33,972 м.д.) и дублета (33,730 м.д. и 34,187 м.д.) высокообогащенного продукта проводят расчет изотопного обогащения ($^{13}\text{C}_3$ -карбонил)триоктаноина.

Изотопная чистота полученного ($^{13}\text{C}_3$ -карбонил)триоктаноина составляет 99,1%, а синтезированного $1\text{-}^{13}\text{C}$ -октаноата натрия, также определяемая по расщеплению сигнала α -метиленовых атомов углерода (в области 40,1 м.д.), составляет 99,3%.

Получение изотопомеров ^{13}C -D-глюкозы

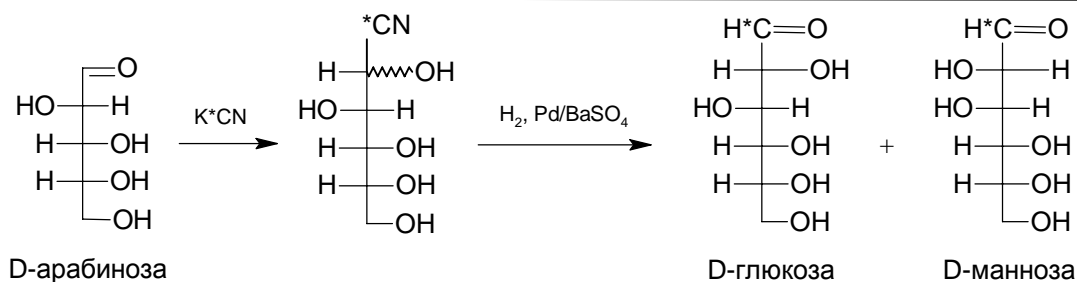
Изотопомеры ^{13}C -D-глюкозы с различным количеством и положением меток ^{13}C в молекуле являются важнейшими препаратами для стабильно-изотопной диагностики онкологических заболеваний [3, 82, 83] и связанных с ними нарушений процессов клеточного метаболизма [83, 84]. Положение метки ^{13}C позволяет выявить нарушения на разных стадиях внутриклеточных процессов, таких как цикл трикарбоновых кислот и др. Наибольшее применение находят $1\text{-}^{13}\text{C}$ -D-глюкоза и $1,2\text{-}^{13}\text{C}_2$ -D-глюкоза.

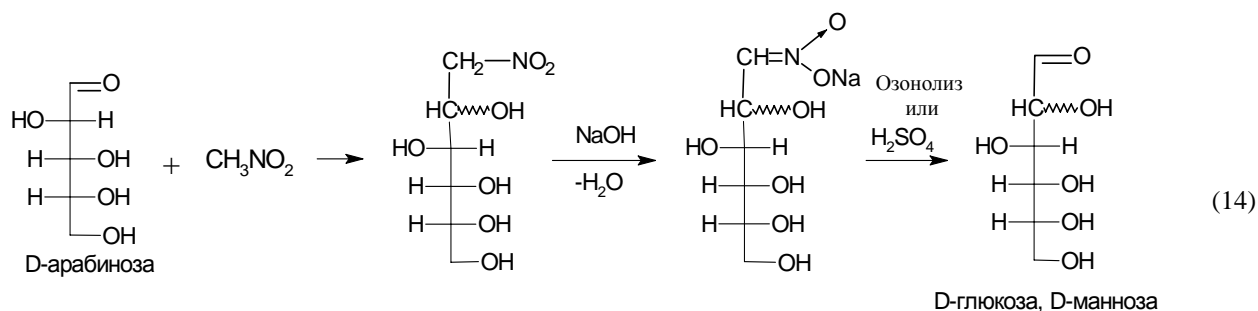
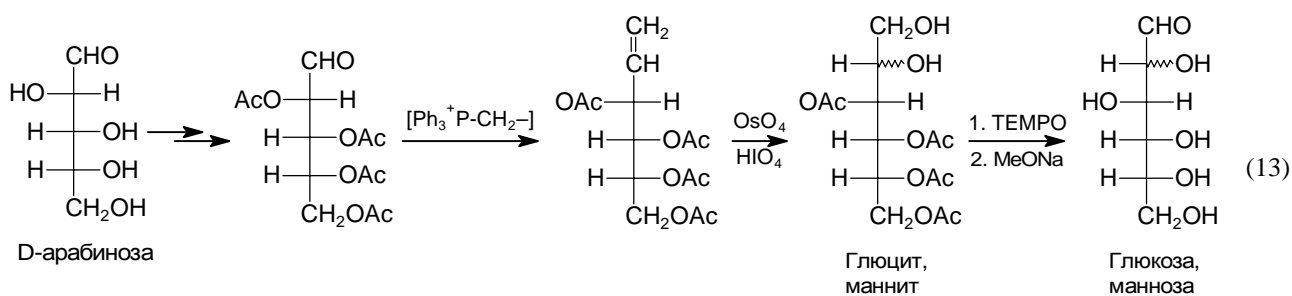
Изотопную метку $^*\text{C}$ в молекулу сахара можно ввести классическим циангидринным методом [85, 86].

Для получения $1,2\text{-}^{13}\text{C}_2$ -D-глюкозы циангидринным методом в качестве исходного сахара используется D-эритроза (C_4). Синтез проводится дважды по схеме (12). При этом всегда наряду с D-глюкозой образуется D-манноза и при разделении их возможна потеря изотопной метки.

Глюкозу можно получить методом наращивания углеродной цепи моносахаридов по реакции Виттига (взаимодействие карбонильных соединений с алкилиденфосфоранами) [87]. Так, при взаимодействии арабинозы с трифенилфосфинметилденем образуется смесь глюкозы и маннозы через промежуточное образование глюцита и маннита [88] (схема 13).

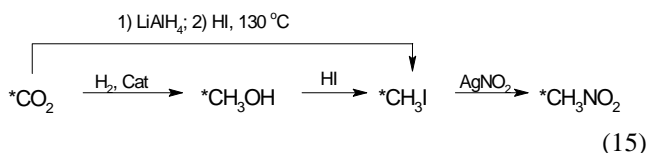
Еще одним из возможных путей синтеза D-глюкозы, меченной изотопом ^{13}C , является нитрометановый метод (метод Соудена—Фишера) [88, 89]: взаимодействие нитропарафинов с альдегидами C_n и дальнейшее превращение образующихся α -нитроспиртов в 2-гидроксиальдегиды C_{n+1}





по реакции Нефа (образование альдегидов из металлических солей *аци*-форм нитросоединений) (схема 14).

¹³C-Нитрометан для этого синтеза можно получить, исходя из ¹³C-метанола [90] или непосредственно из ¹³CO₂ через промежуточное образование ¹³C-метилиодида [91]:



Одна из основных проблем метода — ретрораспад нитронатов с образованием исходного сахара, что снижает выход целевой глюкозы. Отмечается [88], что по сравнению с циангидринным методом существенным преимуществом нитрометанового и других «нецианидных» методов является их простота, поскольку исключается необходимость работы с HCN и ее солями.

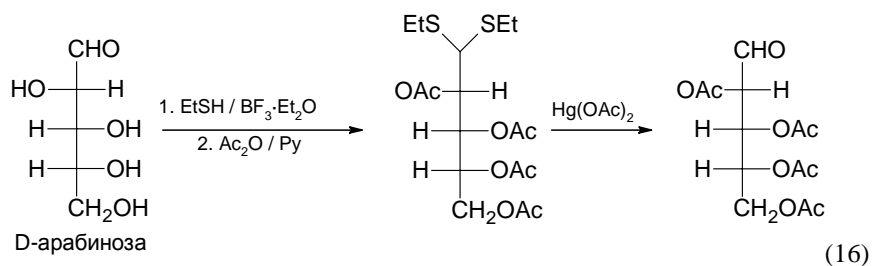
Получение 1-¹³C-D-глюкозы

Как показали предварительные эксперименты, для получения D-глюкозы метод, основанный на реакции Виттига, менее перспективен по сравнению с циангидринным и нитрометановым методами, поскольку, кроме основных стадий (схема 13), требуется двойная защита функциональных групп арабинозы путем превращения альдегидной

в тиоацеталь и ацетилирования гидроксильных групп с последующим снятием этой защиты (схема 16).

Выход ацетилированной арабинозы (исходного реагента для взаимодействия с Ph₃P=CH₂) составляет всего 16%. С учетом того, что для получения глюкоз с «внутренним» положением (2, 3 и т.д.) метки ¹³C, а также дважды меченых глюкоз столь низкая эффективность первых стадий процесса явно недостаточна, решено было отказаться от этой схемы синтеза.

Как известно, важнейшей проблемой в синтезе углеводов является подавление образования нежелательных пространственных изомеров и их разделение при получении индивидуального продукта. С помощью циангидринного метода на базе арабинозы (см. схему 12) были отработаны стадии синтеза и разделения смесей D-глюкозы и D-маннозы, очистки целевой D-глюкозы, а также проверена возможность нежелательного перемещения изотопной метки ¹³C по углеродной цепи молекулы продукта в процессе его синтеза и выделения. В результате был разработан метод синтеза ¹³C-изотопомеров D-глюкозы, не требующий защиты функциональных групп исходных реагентов.



Выход 1-¹³C-D-глюкозы в расчете на K¹³CN составил 26%, а в сумме с 1-¹³C-D-маннозой — 76%.

Строение и чистота полученной 1-¹³C-D-глюкозы установлены методами углеводного анализа (лигандообменная ВЭЖХ), ГХ/МС (с дериватизацией путем О-ацетилирования гидроксильных групп), а также ¹H и ¹³C ЯМР с использованием образца сравнения производства фирмы СІL (США). Два наиболее интенсивных сигнала в спектре ¹³C ЯМР соответствуют С(1) сигналам двух природных форм (α- и β-аномеров) D-глюкозы (92,8 и 96,6 м.д.) и совпадают с сигналами С(1) образца немеченой глюкозы. Следовательно, других меченых сахаридов в препарате нет, о чем свидетельствует и отсутствие сигналов СН₂ОН посторонних первичных ОН-групп (в области 60—70 м.д.). Установлено, что «перемещение» метки в ходе синтеза и очистки 1-¹³C-D-глюкозы не происходит, поскольку другие интенсивные сигналы ¹³C-углерода в спектре ¹³C ЯМР отсутствуют. Дополнительным подтверждением присутствия метки ¹³C именно в положении 1 молекулы D-глюкозы является сильное расщепление сигналов протонов Н(1) α- и β-аномеров на ядрах ¹³C в областях 5,18 м.д. (J_{H-C} = 169,6 Гц) и 4,59 м.д. (J_{H-C} = 161,5 Гц).

Чистота полученной 1-¹³C-D-глюкозы составляет 99,8% (ГХ/МС, ВЭЖХ), степень изотопного обогащения 95,6%, что соответствует изотопной чистоте исходного K¹³CN. Однако из-за высокой токсичности K¹³CN и сложности его синтеза из имеющегося изотопного сырья (¹³CO₂ [92] или ¹³CO) циангидринный метод неперспективен для серийной наработки ¹³C-меченых глюкоз.

Наиболее эффективным методом получения ¹³C-изотопомеров D-глюкозы оказался нитрометановый метод (см. схему 14). Его важнейшее преимущество состоит в использовании малотоксичного и доступного изотопного сырья — ¹³CH₃NO₂, получаемого по схеме (15). Однако опубликованные способы получения глюкозы, в том числе меченой изотопами ¹⁴C [93] и ¹¹C [94], дают весьма малый выход продукта в расчете на нитрометан — не более 10%, по-видимому, вследствие ретрораспада нитронатов [89, 93]. Кроме того, ранее, как правило, применяли значительные избытки нитрометана [93, 95], что также снижало эффективность использования дорогого изотопного реагента.

В данной работе нитрометановый синтез углеводов был значительно усовершенствован, в том числе:

1) благодаря применению эквимольных соотношений нитрометана и исходной арабинозы существенно снижился расход изотопного сырья [96];

2) усовершенствование процедуры кислотной обработки нитронатов (схема 14) позволило впервые значительно уменьшить их ретрораспад до исходного сахара, повысив чистоту и выход целевой глюкозы;

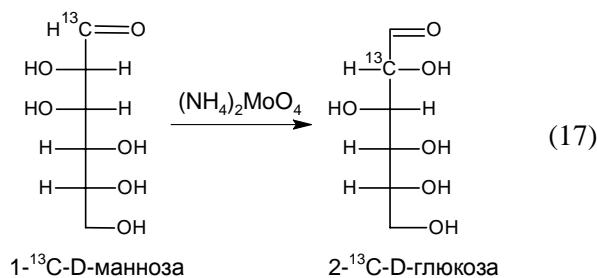
3) метод был существенно упрощен за счет отказа от применения сверхнизких температур, озонлиза и от совмещения процессов разложения нитронатов и снятия защитных групп на первом этапе получения двукратно меченых глюкоз;

4) усовершенствование процедуры колоночного выделения целевой глюкозы позволило также повысить выход готового продукта.

В результате выход 1-¹³C-D-глюкозы в расчете на ¹³C-нитрометан достиг 29%, а в сумме с 1-¹³C-D-маннозой — 59%; выход 1-¹³C-D-глюкозы в расчете на прореагировавшую арабинозу составил 38% (что существенно превышает опубликованные данные 10—15%). Химическая и изотопная чистота продукта более 99%.

Получение двукратно меченых ¹³C-D-глюкоз и изотопомеров с «внутренним» положением метки ¹³C

Для получения ¹³C-изотопомеров D-глюкозы с «внутренним» положением метки ¹³C был разработан способ изомеризации меченых моносахаридов с перемещением изотопной метки по углеродному скелету молекулы. Исходным является нитрометановый синтез, затем проводят изомеризацию полученных углеводов в водном растворе молибдата аммония, используемого в качестве катализатора [85]. Этим способом из арабинозы можно, получать не только 1-¹³C-D-глюкозу, но также 2-¹³C-D-глюкозу изомеризацией побочно образующейся 1-¹³C-D-маннозы:



Этот подход позволяет существенно увеличить степень использования изотопного сырья: при выходе 2-¹³C-D-глюкозы 65% степень использования ¹³C-нитрометана в случае получения обоих изотопомеров на основе арабинозы (схема 14) возрастает в 1,5 раза.

С разработкой способа изомеризации меченых углеводов появилась возможность расширить набор синтезируемых изотопомеров ^{13}C -D-глюкозы с различным числом и положением метки ^{13}C в молекуле (см. схему 18).

Синтезированы следующие продукты:

1- ^{13}C -D-глюкоза, 2- ^{13}C -D-глюкоза, 1,2- $^{13}\text{C}_2$ -D-глюкоза, 1,3- $^{13}\text{C}_2$ -D-глюкоза и 2,3- $^{13}\text{C}_2$ -D-глюкоза.

Все эти продукты характеризуются химической и изотопной чистотой на уровне 98—99%. Кроме того, показана возможность синтеза нового отечественного препарата — 1- ^{13}C -D-галактозы, применяемого для диагностики цирроза печени [1]. В последнее время специалистами Института медико-биологических проблем РАН показана возможность применения ^{13}C -изотопомеров D-глюкозы для диагностики диабета, для изучения печеночного метаболизма, а также процессов энергетического обмена в организме.

В заключение отметим большую группу методов микробиологического синтеза меченых продуктов [97], позволяющих получать, в том числе полностью меченую $^{13}\text{C}_6$ -D-глюкозу [98]. Однако этими методами невозможно селективно вводить метки ^{13}C в определенное положение молекулы продукта.

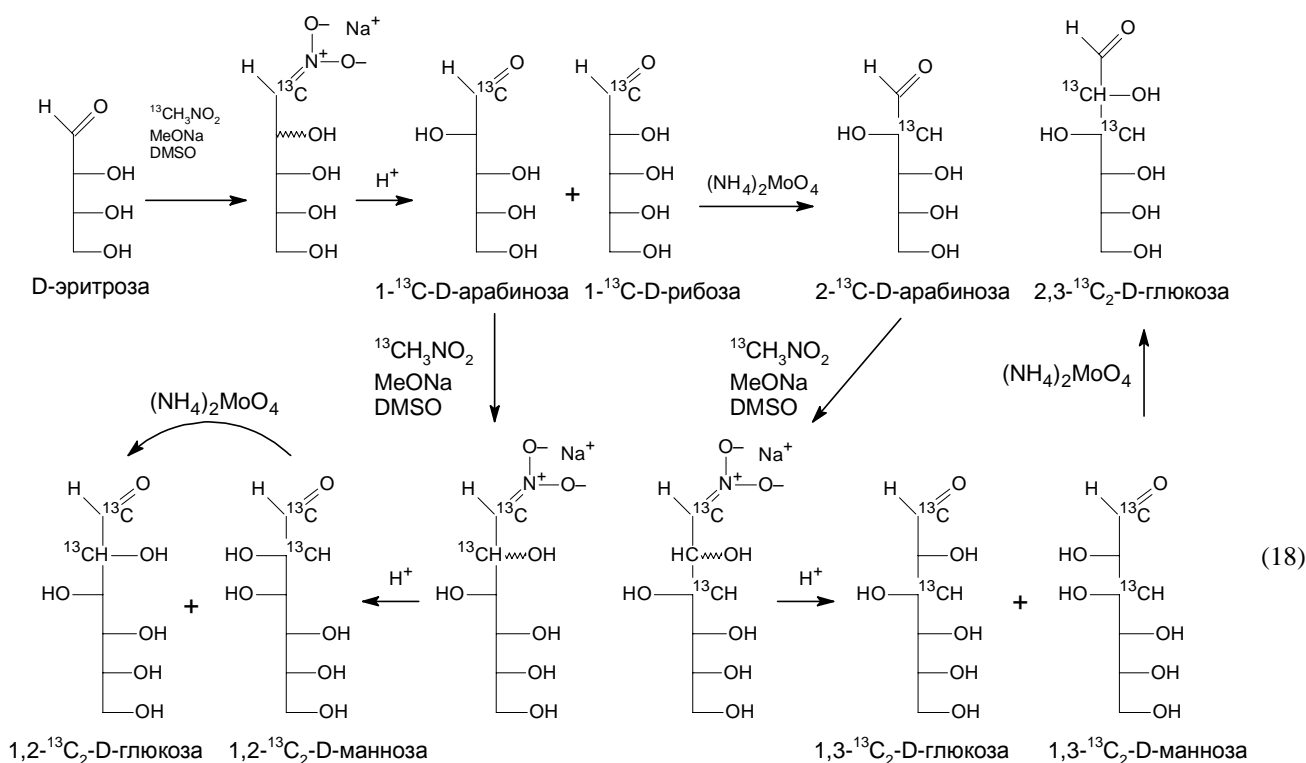
Таким образом, разработанный нитрометановый метод введения изотопа ^{13}C в молекулы угле-

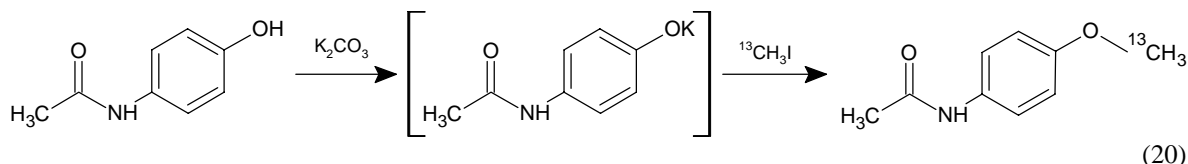
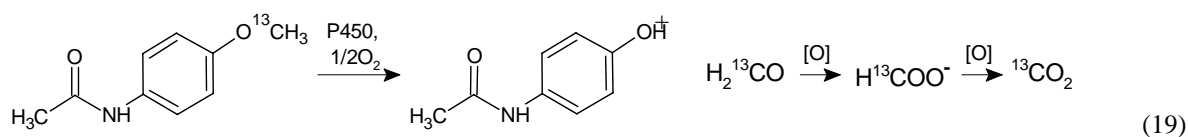
водов в совокупности с методом изомеризации меченых углеводов позволяет синтезировать изотопомеры D-глюкозы и других углеводов с различным количеством и положением изотопных меток ^{13}C . Расчеты показывают, что затраты на синтез ^{13}C -изотопомеров D-глюкозы на базе отечественного изотопного сырья во много раз ниже существующих рыночных цен (например, цена 1,2- $^{13}\text{C}_2$ -D-глюкозы по каталогу Sigma-Aldrich более 2000 долл. за 1 г [18]).

Получение (^{13}C -метокси)метацетина

Одна из основных проблем здравоохранения связана с хроническими заболеваниями печени, которые являются причиной высокого уровня смертности, госпитализации и инвалидности. Для оценки функции печени достаточно широко применяется ^{13}C -метацетиновый дыхательный тест, основанный на реакции окислительного деметилирования (^{13}C -метокси)метацетина с образованием $^{13}\text{CO}_2$ (схема 19).

Выделяемый $^{13}\text{CO}_2$ выводится через легкие и может быть надежно зафиксирован с помощью масс-спектрометров или инфракрасных анализаторов [1]. Метацетиновый дыхательный тест характеризуется высокой чувствительностью и специфичностью (более 90%) [99]. Он позволяет диаг-





нострировать разные стадии цирроза, гепатита и других заболеваний [11, 100] на основании сравнения фармакокинетики выведения $^{13}\text{CO}_2$ у пациента и здоровых добровольцев с использованием специальных математических критериев [10, 11].

В литературе нам не удалось обнаружить сведений по синтезу метацетина. На базе имеющегося изотопного сырья нами разработан метод, основанный на реакции О-метилирования парацетамола (*n*-ацетаминофенола), являющегося доступным промышленным сырьем медицинского назначения. Как известно [101], реакции О-алкилирования фенолов алкилгалогенидами катализируются протонными кислотами либо щелочами с промежуточным образованием фенолята щелочного металла. Однако в этих условиях может протекать гидролиз амидной группы парацетамола. Поэтому для промежуточного получения соли парацетамола в качестве основания был использован безводный карбонат калия (схема 20).

Алкилирующий реагент — ^{13}C -метилюидид получали по схеме (15). Синтез метацетина проводили методом *one pot* (в одном сосуде) без выделения промежуточной соли парацетамола, контролируя протекание реакции с помощью ВЭЖХ. При комнатной температуре парацетамол превращается в (^{13}C -метокси)метацетин, который очищали на колонке с активированным углем до степени чистоты 99,6%. Выход продукта 97,8% в расчете на ^{13}C -метилюидид. Изотопную чистоту продукта определяли методом ^1H ЯМР спектроскопии по расщеплению сигналов протонов ^{13}C -метокси-группы в области 3,75 м.д. ($J_{^{13}\text{C}-\text{H}}=143,6$ Гц). Изотопная чистота (^{13}C -метокси)метацетина 99,56%.

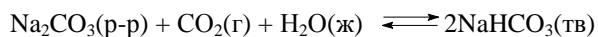
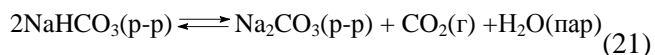
Разработанный метод синтеза (^{13}C -метокси)метацетина обеспечивает наработку продукта высокого качества в масштабе 50 г за одну операцию. Селективность метода близка к 100%; достигается

практически полное использование ^{13}C -изотопного сырья, остальные реактивы дешевы и общедоступны.

Получение ^{13}C -бикарбоната натрия

^{13}C -Бикарбонат натрия (гидрокарбонат натрия) широко применяется в медицине для дыхательной диагностики кислотности в желудке и связанных с этим функций ЖКТ, диагностики гиперкапнии (отравление углекислым газом в результате повышения его уровня в крови), для изучения общего энергетического обмена в организме и назначения диет питания, а также для диагностики опухолей методом ^{13}C ЯМР с гиперполяризацией [2, 102, 103].

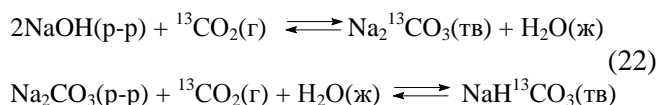
Чистый гидрокарбонат натрия получают в промышленности следующим образом. Сначала технический бикарбонат натрия горячим паром переводят в карбонат натрия, затем, пропуская диоксид углерода под давлением через насыщенный раствор карбоната натрия при температуре $\sim 75^\circ\text{C}$ (карбонизация), получают бикарбонат натрия [104, 105]:



Карбонизация содового раствора — основная стадия производства чистого (пищевого) бикарбоната натрия — проводится в карбонизационных колоннах, реагирующие жидкость и газ движутся по принципу противотока: в верхнюю часть колонны поступает содовый раствор, в нижнюю — газ, содержащий 33—40% (об.) CO_2 . По мере поглощения диоксида углерода газовая среда обедняется и выпускается в атмосферу с содержанием CO_2 14—16%. Процесс карбонизации содового раствора сложный и зависит от многих факторов:

температуры, давления и концентрации раствора. С учетом того, что в промышленных условиях осуществляется постоянный проток CO_2 , такой способ нельзя признать пригодным для получения ^{13}C -меченого продукта ни по технологическим, ни по экономическим соображениям.

Предложено проводить реакцию в герметичном реакторе, чтобы не допустить потерь дорогостоящего $^{13}\text{CO}_2$, а в качестве второго реагента использовать гидроксид натрия (водный раствор). Образующийся при взаимодействии этих реагентов содовый раствор затем подвергается карбонизации:



Проведение обеих реакций совмещают в одном реакторе в одной технологической стадии. Процесс начинается при комнатной температуре и невысоком избыточном давлении $^{13}\text{CO}_2$ (до 8 атм), которое снижается по мере образования продукта. Затем температуру в реакторе повышают до 75—90 °С и завершают процесс при полном прекращении поглощения газа. Полноту протекания реакции определяют по кислотности конечного раствора над осадком: $\text{pH} = 8,2$ свидетельствует о практическом отсутствии остаточной щелочи или примеси Na_2CO_3 . Готовый бикарбонат выделяют путем кристаллизации из этанола и высушивают.

Продукт анализируют методами ИК спектроскопии и термического разложения до постоянной массы, а также путем элементного анализа. В результате получают $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$ чистотой 99,9% с выходом 97,8% в расчете на $^{13}\text{CO}_2$. Высокая степень чистоты продукта подтверждена определением эквивалента (титрование 0,1 н. HCl): 1,1903 при теоретическом значении 1,1904.

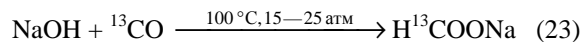
Таким образом, разработан эффективный метод синтеза $\text{NaH}^{13}\text{CO}_3$, основанный на взаимодействии водного раствора NaOH с $^{13}\text{CO}_2$. Процесс проводится в герметичном периодиче-

ском реакторе под давлением практически без потери изотопного сырья. Содержание основного вещества близко к 100% (масс.).

Синтезы других ^{13}C -продуктов

Разработаны способы получения целого ряда перспективных диагностических ^{13}C -препаратов.

Одной из промежуточных биохимических реакций, влияющих на результаты дыхательных тестов метаболической функции печени, является окисление ^{13}C -формиата до ^{13}C -бикарбоната. Для уточнения диагностики, проводимой с помощью метацетинового дыхательного теста, был синтезирован ^{13}C -формиат натрия по реакции ^{13}CO с метанольным раствором NaOH :

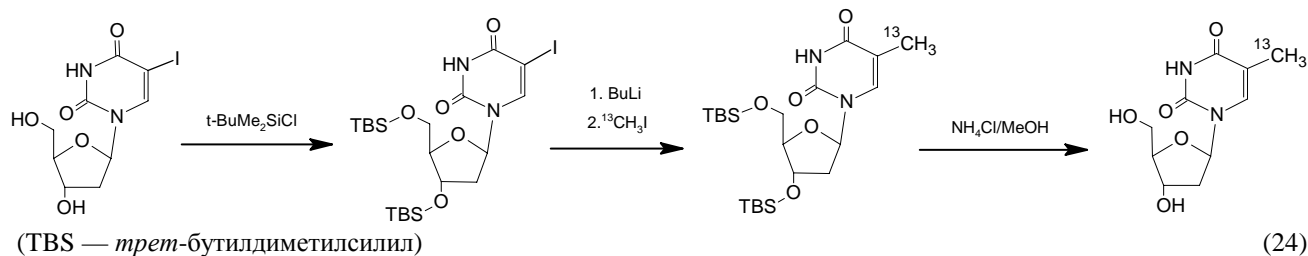


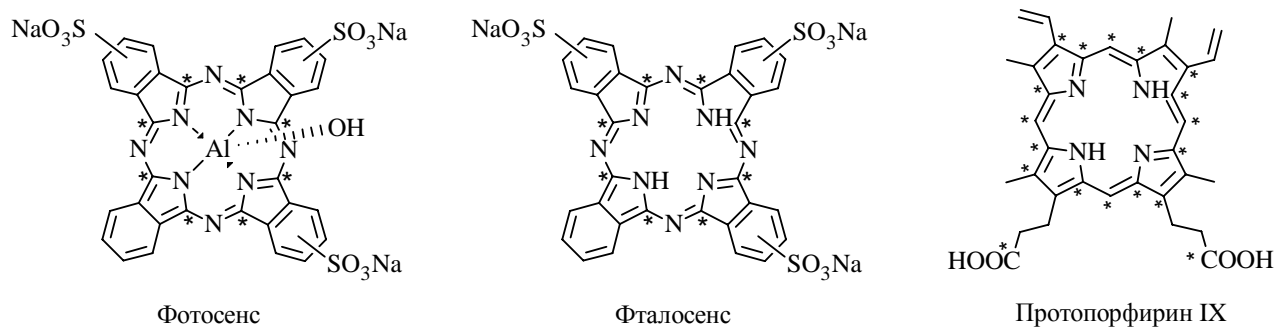
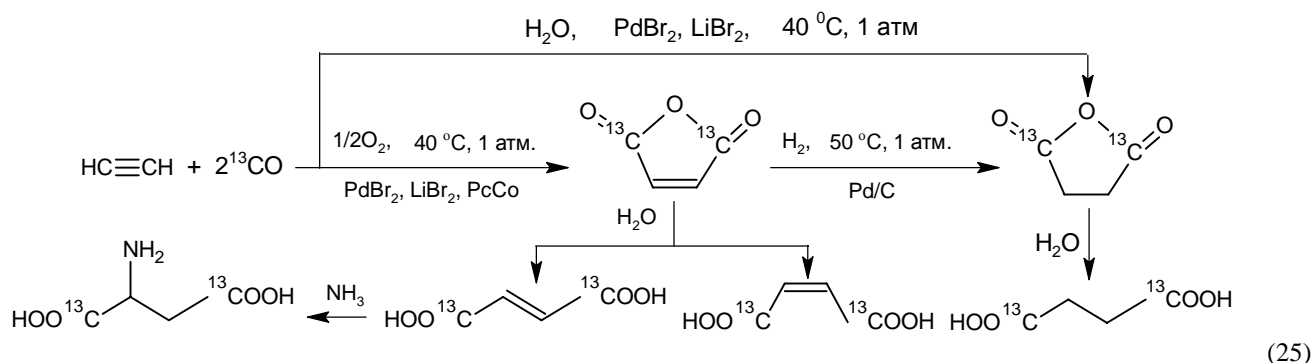
Выход ^{13}C -формиата 72% в расчете на ^{13}CO , химическая чистота 99,9%, изотопная чистота 98,5%.

Препарат 5α -(^{13}C)-тимидин можно использовать в качестве индикатора пролиферации (роста) опухолей, благодаря его способности встраиваться в ДНК опухолевых клеток. Синтез продукта осуществляется на основе 5-иод-2-дезоксипридина и $^{13}\text{CH}_3\text{I}$ (схема 24).

Обработка режимов стадий литирования и метилирования позволила избежать образования N -метилпроизводного тимидина, а также свести к минимуму побочный ретрораспад до 2-дезоксипридина. В результате был получен 5α -(^{13}C)-тимидин с выходом 62%, химическая чистота 99%, изотопная чистота 99,55%.

Активно развиваются работы по изучению метаболических процессов, сопровождающих опасные заболевания — образование опухолей, болезни центральной нервной системы и ряд других [3, 102, 106] — с помощью ^{13}C -биомаркеров. В качестве биомаркеров применяют эндогенные производные ^{13}C -дикарбоновых кислот C_4 — фумаровой, малеиновой, янтарной и аспарагиновой. Синтезы





Метки ^{13}C обозначены значком*

этих продуктов были разработаны на базе метода жидкофазного карбонилирования (^{13}CO) ацетилен в присутствии бромидов Pd и Li (схема 25)*.

В отсутствие окислителя карбонилирование ацетилен идет преимущественно с образованием янтарного ангидрида, тогда как в условиях окислительного карбонилирования можно с высокой селективностью получать малеиновый ангидрид [107, 108]. Этим методом получают продукты с химической и изотопной чистотой 98—99%.

Современные методы диагностики ряда онкологических заболеваний основаны на доставке фталоцианиновых и порфириновых биомаркеров непосредственно в опухоли. Для флуоресцентной диагностики применяют препараты фталоцианинового ряда, такие как Фталосенс и Фотосенс, которые после внутривенного введения накапливаются в опухоли. При фотодинамической диагностике в организм вводят 5-аминолевулиновую кислоту, которая в результате биохимических реакций превращается в протопорфирин IX, накапли-

вающийся только в раковых клетках. При действии излучения с определенной длиной волны на опухоли возникает свечение, что позволяет получить их снимки [109, 110]. Однако с помощью таких изображений можно исследовать опухоли лишь с поверхности, а в некоторых случаях этому мешают окружающие органы и ткани.

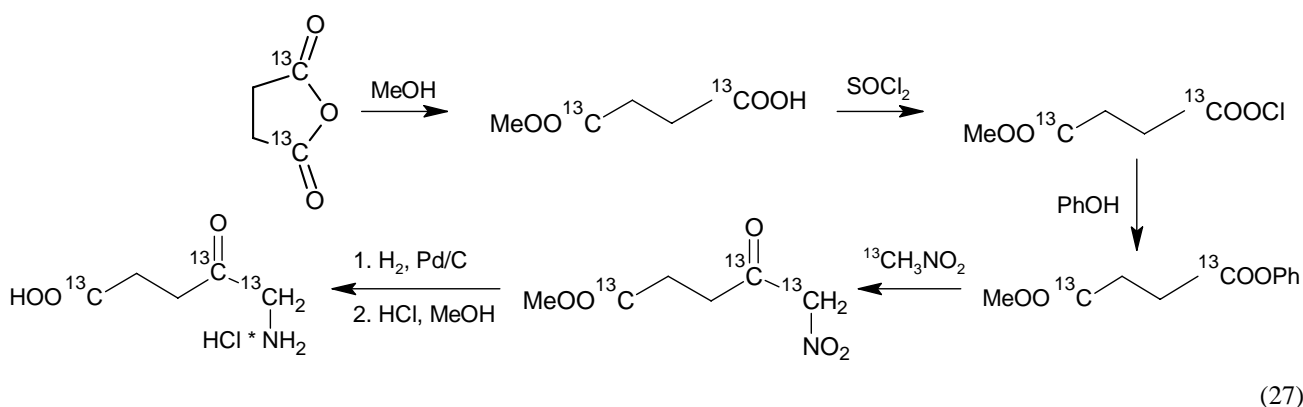
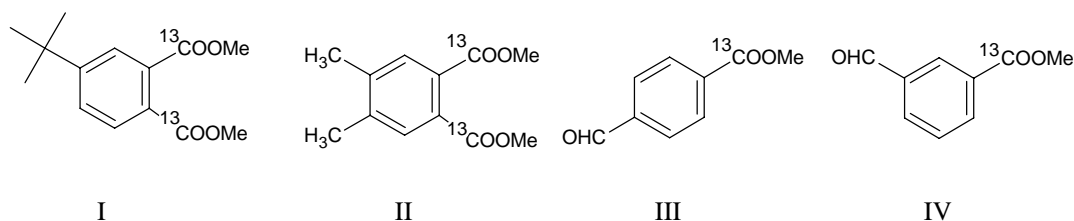
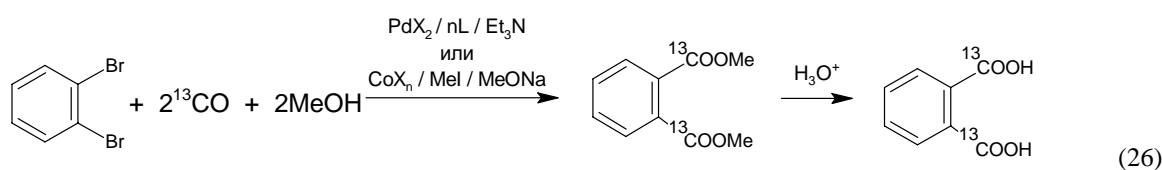
Для получения четких изображений внутренней структуры (срезов) опухоли предложено использовать метод магнитно-резонансной томографии на ядрах ^{13}C (^{13}C ЯМР с гиперполяризацией [111]) с применением восьмикратно меченых $^{13}\text{C}_8$ -фталоцианинов, которые можно получить на основе производных ($^{13}\text{C}_2$ -карбокситфталевой кислоты).

Если же в качестве исходного препарата использовать 5-амино[1,4,5- $^{13}\text{C}_3$]левулиновую кислоту, то образующийся в опухоли протопорфирин IX будет содержать 18 меток ^{13}C .

($^{13}\text{C}_2$ -карбонил)диметилфталат и ($^{13}\text{C}_2$ -карбокситфталевую кислоту синтезировали методом жидкофазного карбонилирования *o*-дибромбензола в метаноле, катализаторами служили соединения палладия и кобальта (схема 26).

В относительно мягких условиях (100 °C, 2—3 атм CO) каталитическая система Pd(OAc) $_2$ /dppf/Et $_3$ N

* В работе по синтезу аспарагиновой кислоты участвовал проф. А.Д. Шуталев (МИТХТ им. М. В. Ломоносова).



(dppf — 1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен) обеспечивает селективность процесса $\geq 98\%$. Выход выделенного целевого диметилфталата составляет 94%, производительность лабораторной установки ~ 40 г/(л·ч). Химическая чистота целевого продукта 99%, изотопная чистота 98,5% [112]. Палладиевый катализатор более предпочтителен, чем кобальтовый, поскольку в присутствии Со-системы происходит побочное образование метилацетата, а это снижает селективность процесса в отношении ¹³CO.

На основе этого метода разработаны синтезы замещенных эфиров фталевой [113] и бензойной кислот (см. формулы I—IV) для получения различных фталоцианинов и порфиринов.

Осуществлен синтез ¹³C-изотопмеров 5-аминолевулиновой кислоты [110], исходя из 1,4-¹³C₂-янтарного ангидрида, получаемого карбонилированием ацетилена (схема 27).

Методы определения изотопного обогащения, разработанные для синтезированных продуктов — 5-амино[1,4-¹³C₂]левулиновой и 5-амино[1,4,5-¹³C₃]левулиновой кислот, для каждого положения

метки ¹³C показали изотопную чистоту, равную 98—99%.

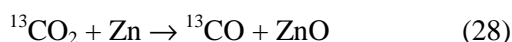
Проведенные работы позволили создать значительный задел для развития мощных неинвазивных методов изотопной диагностики различных видов опухолей, а также заболеваний мозга с использованием большой группы ¹³C-биомаркеров, получаемых на базе отечественного изотопного сырья.

Следует отметить, что для большинства представленных синтезов потребовалась дополнительная разработка методов получения базовых, исходных ¹³C-соединений, таких как ¹³C-метанол, ¹³C-метилюрид, ¹³C-нитрометан. Это открывает возможности синтеза новых ¹³C-продуктов и препаратов для медицины и других областей: 1-¹³C- и 1,2-¹³C₂-ацетатов (диагностика функций желудка [1] и изучение метаболических процессов [82, 102, 114]), ¹³C₂-диметиламиновых производных антипирина (диагностика функции печени [1]) и эритромицина (назначение индивидуальных дозировок препаратов в онкологии, трансплантологии [115]) и других соединений.

¹³C-Продукты, синтезированные в период 2007—2012 гг.

¹³ C-мочевина	Этиленкарбонат (¹³ C-карбонил)
1- ¹³ C-каприловая кислота	Пропиленкарбонат (¹³ C-карбонил)
1- ¹³ C-октаноат натрия	1- ¹³ C-каприловый альдегид
Триоктаноин (¹³ C ₃ -карбонил)	1,4- ¹³ C ₂ -янтарный ангидрид
Метацетин (¹³ C-метокси)	1,4- ¹³ C ₂ -янтарная кислота
1- ¹³ C-D-глюкоза	1- ¹³ C-D-манноза
2- ¹³ C-D-глюкоза	1- ¹³ C-D-арабиноза
1,2- ¹³ C ₂ -D-глюкоза	Диметилфталат (¹³ C ₂ -карбонил)
1,3- ¹³ C ₂ -D-глюкоза	4- <i>трет</i> -бутилдиметилфталат (¹³ C ₂ -карбонил)
2,3- ¹³ C ₂ -D-глюкоза	Фталевая (¹³ C ₂ -карбоксо) кислота
Тимидин (¹³ C-метил)	4- <i>трет</i> -бутилфталевая (¹³ C ₂ -карбоксо) кислота
¹³ C-бикарбонат натрия	¹³ C-метанол
¹³ C-формиат натрия	¹³ C-метилюрид
1,4- ¹³ C ₂ -5-аминолевулиновая кислота	¹³ C-нитрометан
1,4,5- ¹³ C ₃ -5-аминолевулиновая кислота	Монооксид ¹³ C-углерода

Следует упомянуть также о способе получения ¹³CO восстановлением ¹³CO₂, разработанном специально для синтеза ¹³C-продуктов методами карбонилирования в лабораторных масштабах:



Наиболее существенным недостатком известных аналогичных способов [116, 117] является спекание порошков металлического цинка в условиях проведения процесса (380—430 °C). Разработанный способ лишен этого недостатка. Цинк заменен на порошок латуни, что позволяет проводить процесс при температурах до 730 °C, а применение проточно-циркуляционной схемы установки обеспечивает почти количественный выход ¹³CO. Производительность установки составляет ~250 л¹³CO/мес., выход продукта 98,5% в расчете на ¹³CO₂ [118].

Заключение

Впервые в нашей стране разработаны методы получения тридцати ¹³C-продуктов (см. таблицу) высокого качества с изотопной чистотой 99 %, принадлежащих к разным классам соединений, в том числе 18 продуктов медицинского назначения для ранней диагностики опасных заболеваний.

Организациями-разработчиками выпущены технологические регламенты производства ¹³C-продуктов, разработаны ТУ, проекты фарма-

копейных статей и другая нормативно-техническая документация. Созданы установки по производству ¹³C-продуктов для медицины в укрупненном масштабе, включая ¹³C-мочевину в объеме 120000 уреазных дыхательных тестов, 1-¹³C-каприловую кислоту в объеме 7000 тестов, а также установки для наработки ¹³C-изотопомеров D-глюкозы, ¹³C-метацетина и других важных продуктов для стабильно-изотопной диагностики. Нарботанные и сертифицированные образцы указанных продуктов переданы медицинским организациям для проведения испытаний и разработки методик дыхательных тестов. Патентами РФ защищены 14 способов синтеза.

На научной и производственной базе ГНЦ РФ «НИОПИК» проведены работы по подготовке к серийному выпуску субстанций и готовых форм первых отечественных диагностических ¹³C-препаратов и их государственной регистрации. Разработан препарат Геликотест на основе ¹³C-мочевины, успешно проведены его доклинические испытания и подготовлен проект участка по производству готовой формы препарата. Препарат должен быть передан на дальнейшие испытания для медицинской регистрации. Разработаны готовые формы препаратов на основе ¹³C-метацетина, 1-¹³C-октаноата натрия и ¹³C₃-триоктаноина, препараты подготовлены к проведению доклинических испытаний. К сожалению, в настоящее время

финансирование этих работ Правительством Москвы прекращено.

Как уже упоминалось, ^{13}C -продукты находят применение не только в медицине, но и в ряде других областей, включая криминалистику и судебную экспертизу, изучение процессов эволюции, антидопинговый контроль, геологию [119], геофизику, океанографию, агрохимию, получение радиоизотопных препаратов, изучение механизмов химических реакций [120] и защиту патентных прав на химические технологии [121], производство стандартных образцов [122], космические исследования. В случае продолжения работ номенклатура выпускаемых ^{13}C -продуктов может быть значительно расширена.

Особого внимания заслуживает бурное развитие за рубежом работ по медицинскому применению ^{13}C -биомаркеров с использованием ^{13}C ЯМР спектроскопии, в том числе ^{13}C ЯМР с гиперполяризацией (^{13}C -магнитно-резонансная томография) [111, 123]. Метод предоставляет новые широкие возможности диагностики в области онкологии и неврологии — получение снимков опухолей, изучение процессов метаболизма и диагностирование опасных заболеваний центральной нервной системы (болезни Альцгеймера, Канавана и др.). Кроме того, этот метод позволяет использовать даже самые «простые» ^{13}C -продукты в качестве контрастных препаратов для визуализации кровеносной системы. Так, в работе [124] с помощью гиперполяризованной ^{13}C -мочевины были получены снимки всей кровеносной системы мыши, при этом качество снимков оказалось выше, чем в случае обычной (протонной) магнитно-резонансной томографии (МРТ).

Основной проблемой создаваемого метода ^{13}C -МРТ является сравнительно небольшое время сохранения гиперполяризованного состояния ^{13}C -биомаркера. Однако разработанные методики позволяют получать десятки снимков в одном исследовании (за несколько минут). При этом используются серийные медицинские томографы, разработаны конструкции датчиков для исследования головного мозга (в форме подголовника). В то же время отсутствие необходимости применения синхротронов и радиоактивных маркеров и связанные с этим экономические преимущества и безопасность могут сделать метод ^{13}C -МРТ конкурентоспособным в сравнении с позитронно-эмиссионной томографией — одним из наиболее

мощных методов современной медицинской диагностики.

Россия обладает собственным производством стабильных изотопов в отличие от многих стран, вынужденных импортировать изотопную продукцию. Это ключевое преимущество позволяет обеспечить отечественную медицину и многие другие области столь необходимыми ^{13}C -изотопными продуктами, импорт которых весьма дорог. Разработанные процессы характеризуются высокой эффективностью. Так, в одностадийных синтезах меченых мочевины, каприловой кислоты, метацина, бикарбоната натрия достигается практически полное использование изотопного сырья, а проведение ряда процессов без использования растворителей существенно повышает их производительность. Экономические расчеты, проведенные по результатам выполненных работ, показали, что себестоимость отечественных ^{13}C -продуктов во много (а иногда — в десятки) раз ниже существующих мировых цен, поэтому собственное производство указанных продуктов значительно выгоднее их закупок по импорту.

Разработанные методы и продукты имеют значительный рыночный потенциал, поскольку их мировое производство сосредоточено практически лишь в двух компаниях — «Isotech» (подразделение «Sigma-Aldrich») и «Cambridge Isotope Laboratories», продукцию которых приобретают многочисленные исследовательские центры и фирмы. Низкая себестоимость разработанных ^{13}C -продуктов, высокие цены (более 7000 долл. за 1 г вещества), а также отсутствие многих необходимых ^{13}C -соединений на мировом рынке показывают, что в результате проведенных в России работ создана высокоэффективная наукоемкая отечественная продукция, имеющая большие экспортные возможности.

Разработанные методы синтеза ^{13}C -продуктов, а также технологии процессов их серийного получения, кратко рассмотренные в данном обзоре, служат основой для налаживания производства этих продуктов в России.

Авторы данной статьи выражают благодарность А.В. Кисину, В.М. Носовой, А.В. Максимычеву, А.М. Перепухову за помощь в применении методов ЯМР для анализа качества ^{13}C -продуктов и определения их изотопной чистоты, а также всем сотрудникам, принимавшим участие в выполнении данной программы работ.

ЛИТЕРАТУРА

1. Рапопорт С.И., Шубина Н.А., Семенова Н.В. ^{13}C -Дыхательный тест в практике гастроэнтеролога. М.: ИД-МЕДПРАКТИКА-М, 2007, 136 с.
2. Modak A. J. *Breath Res.*, 2007, v. 1, p. R1—R13.
3. Fan T.W.M., Lane A.N., Higashi R.M., Farag1 M.A., Gao H., Bousamra M., Miller D.M. *Mol. Cancer*, 2009, v. 8, № 41, p. 1—19.
4. Brindle K.M., Bohndiek S.E., Gallagher F.A., Kettunen M.I. *Magn. Reson. Med.*, 2011, v. 66, p. 505—519.
5. Yamazaki S., Toth L.N., Kimoto E., Bower J., Skaptason J., Romero D., Heath T.G. *Drug. Metab. Dispos.*, 2009, v. 37, p. 937—945.
6. Изотопы. Свойства, получение, применение. Под ред. В.Ю. Баранова. М.: Физматлит, 2005, 728 с.
7. Веливецкая Т.А., Игнатъев А.В. Электронный журнал «Исследовано в России», 2003, с. 1485—1502. URL: <http://zhurnal.ape.relarn.ru/articles/2003/26.pdf>.
8. Gisbert J.P., Pajares J.M. *Aliment. Pharmacol. Ther.*, 2004, v. 20, p. 1001—1017.
9. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C., Hungins A.P.S., Jones R., Axon A., Graham D.Y., Tytgat G. *Ibid.*, 2002, v. 16, p. 167—180.
10. Новрузбеков М.С., Донова Л.В., Ходарева Е.Н., Андросова М.В., Чжао А.В., Невмержицкий В.И. *Анн. хирур. гепатол.*, 2009, т. 14, № 1, с. 41—48.
11. Kasicka-Jonderko A., Nita A., Jonderko K., Kamińska M., Błońska-Fajfrowska B. *World J. Gastroenterol.*, 2011, v. 17, № 45, p. 4979—4986.
12. Malfertheiner P., Megraud F., O'Morain C.A., Atherton J., Axon A.T.R., Bazzoli F., Gensini G.F., Gisbert J.P., Graham D.Y., Rokkas T., El-Omar E.M., Kuipers E.J. *Gut*, 2012, v. 61, p. 646—664.
13. Benson S., Lennard C., Maynard P., Roux C. *Forensic Sci. Int.*, 2006, v. 157, p. 1—22.
14. Ivanov A.A. *Int. Res. J. Pure Appl. Chem.*, 2011, v. 1, № 2, p. 58—65.
15. Hagl S., Deusser H., Soyalan B., Janzowski C., Will F., Dietrich H., Albert F.W., Rohner S., Richling E. *Mol. Nutrition Food Res.*, 2011, v. 55, № 3, p. 368—377.
16. Афонин Б.В., Седова Е.А., Гончарова Н.П., Соловьева А.А. *Авиакосм. экол. мед.*, 2011, т. 45, № 6, с. 52—56.
17. URL: <http://www.isotope.com/cil/index.cfm>.
18. URL: <http://www.sigmaaldrich.com/chemistry/stable-isotopes-isotec>.
19. URL: <http://sbpv.ucoz.ru/index/0-52>.
20. Химическая энциклопедия: В 5 т. Т. 3: Редкол.: Кнунянц И.Л. и др. М.: Большая Российская энцикл., 1992, с. 144.
21. Мэррей А., Уильямс Д.Л. Синтезы органических соединений с изотопами углерода. М.: Издательство, 1961, ч. I, с. 683—687.
22. Патент ЕАПВ № 004471, 2004.
23. Radel R.J., Kim Y.K. US Statutory Invention Registration № H38, 1986.
24. Butler D.C.D., Cole-Hamilton D.J. *Inorg. Chem. Commun.*, 1999, v. 2, p. 305—307.
25. Taqui Khan M.M., Halligudi S.B., Abdi S.H.R.; Shukla S. *J. Mol. Catal.*, 1988, v. 48, p. 25—27.
26. Dombek B.D., Angelici R.J. *J. Catal.*, 1977, v. 48, p. 433—435.
27. Patent US № 2993931, 1961.
28. Patent US № 2857430, 1958.
29. Franz R.A., Applegath F. *J. Org. Chem.*, 1961, v. 26, p. 3304—3305.
30. Patent GB № 1275702, 1972.
31. Patent US № 4801744, 1989.
32. Shivarkar A.B., Gupte S.P., Chaudhari R.V. *J. Mol. Catal.*, 2004, v. 223, № 1&2, p. 85—92.
33. Delledonne D., Rivetti F., Romano U. *Appl. Catal. A.*, 2001, v. 221, p. 241.
34. Aresta M. *Activation of Small Molecules*. Ed. W.B. Tolman. Weinheim: WILEY-VCH Verlag GmbH & Co. KGaA, 2006, p. 20—23.
35. Окись этилена. Под ред. П.В. Зимакова и О.Н. Дымента. М.: Химия, 1967, 320 с.
36. Kim H.S., Kim J.J., Lee S.D., Lah M.S., Moon D., Jang H.G. *Chem. Eur. J.*, 2003, v. 9, № 3, p. 678—686.
37. Fujita S., Bhanage B.M., Arai M. *Chem. Lett.*, 2004, v. 33, № 6, p. 742—743.
38. Patent US № 2667497, 1954.
39. Patent US № 4233221, 1980.
40. Behr A. *Carbon Dioxide Activation by Metal Complexes*. New York: VCH, 1988.
41. Darensbourg D.J., Holtcamp M.W. *Coord. Chem. Rev.*, 1996, v. 153, p. 155—174.
42. Sun J., Zhang S., Cheng W., Ren J. *Tetrahedron Lett.*, 2008, v. 49, p. 3588—3591.
43. Ratzenhofer M., Kisch H. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 1980, v. 19, p. 317—318.
44. Kim H.S., Kim J.J., Jang H.G. *J. Catal.*, 2003, v. 220, p. 44—46.
45. Kim H.S., Jelliarko P., Lee J.S., Lee S.Y., Kim H., Lee S.D., Ahn B.S. *Applied Catal. A.*, 2005, v. 288, p. 48—52.
46. Omae I. *Coord. Chem. Rev.*, 2012, v. 256, p. 1384—1405.
47. Patent US № 6407264, 2002.
48. Kim H.S., Kim J.J., Lee B.G., Jung O.S., Jang H.G., Kang S.O. *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*, 2000, v. 39, p. 4096—4098.
49. Kim H.S., Kim J.J., Kwon H.N., Chung M.J., Lee B.G., Jang H.G. *J. Catal.*, 2002, v. 205, p. 226—229.
50. Kim H.S., Bae J.Y., Lee J.S., Kwon O-S., Jelliarko P., Lee S.D., Lee S.-H. *Ibid.*, 2005, v. 232, p. 80—84.
51. URL: http://www.propylenglicol.ru/Farmatsevticheskaya_promishlennost_Oblast_primneniya_31.htm.

52. Патент РФ № 2415837, 2011.
53. Патент РФ № 2440826, 2012.
54. *Sonoda N.* Pure Appl. Chem., 1993, v. 65, № 4, p. 699—706.
55. *Kihlberg T., Karimi F., Långström B.* J. Org. Chem., 2002, v. 67, p. 3687—3692.
56. *Chen J., Ling G., Lu S.* Tetrahedron, 2003, v. 59, p. 8251—8256.
57. *Elman A.R., Batov A.E., Smirnov V.I.* In: Proceedings of Conference ISOTOPEs 2009, Cluj-Napoca, Romania, 25—29 May, 2009.
58. *Elman A.R., Smirnov V.I.* J. Environ. Sci. Eng., 2011, v. 5, № 8, p. 1006—1012.
59. Патент РФ № 2393141, 2010.
60. *Беккер Г., Бергер В., Домике Г., Фангхенель Э., Фауст Ю., Фишер М., Гентц Ф., Говальд К., Глух Р., Майер Р., Мюллер К., Павел Д., Шмидт Г., Шольберг К., Шветлик К., Зейлер Э, Цепенфельд Г.* Органикум. Практикум по органической химии. М.: Мир, 1979, т. II, с. 198.
61. *Мэррей А., Уильямс Д.Л.* Синтезы органических соединений с изотопами углерода. М.: Издательский центр «ИЗДАТЕЛЬСТВО ХИМИИ», 1961, ч. I, с. 73—93.
62. *Петров Э.С., Носков Ю.Г.* Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева), 1998, т. 42, № 4, с. 149—157.
63. Patent US № 7265240, 2007.
64. *Крон Т.Е., Петров Э.С.* Нефтехимия, 2003, т. 43, № 6, с. 412—416.
65. *Аверьянов В.А., Баташев С.А., Севостьянова Н.Т., Зарытовский В.М.* Катализ в промышл., 2005, № 2, с. 25—33.
66. Патент РФ № 2311402, 2007.
67. Patent GB № 1234641, 1971.
68. Patent US № 5003104, 1991.
69. *Шелдон Р.А.* Химические продукты на основе синтез-газа. М.: Химия, 1987, с. 114—115.
70. *Колхаун Х.М., Холтон Д., Томпсон Д., Твигг М.* Новые пути органического синтеза. Практическое использование переходных металлов. М.: Химия, 1989, с. 195—198.
71. *Beller M., Cornlis B., Frohning C.D., Kohlpaintner C.W.* J. Mol. Catal. A., 1995, v. 104, p. 17—85.
72. *Jia Y.P., Cui Y.N., Yin J.M., Zhou G.Y., Li S.M., Gao D.B., Wang X.S.* Chin. Chem. Lett., 2010, v. 21, p. 1033—1036.
73. *Zhou H., Lu S., Li H., Chen J., Fu H., Wang H.* J. Mol. Catal. A: Chem., 1997, v. 116, p. 329—333.
74. *Seayad A., Jayasree S., Chaudhari R.V.* Ibid., 2001, v. 172, p. 151—164.
75. *Kamer P.C.J., Reek J.N.H., van Leeven P.W.N.M.* In: Rhodium Catalyzed Hydroformylation. Eds P.W.N.M. van Leeven, C. Claver. Dordrecht: Kluwer Academic Publishing, 2000, p. 35—62.
76. *Behr A., Obst D., Schulte C., Schosser T.* J. Mol. Catal. A: Chem., 2003, v. 206, № 1—2, p. 179—184.
77. *Dupont J., Silva S.M., de Souza R.F.* Catal. Lett., 2001, v. 77, № 1—3, p. 131—133.
78. Патент РФ № 2352552, 2009.
79. *Tsuiji J.* Palladium. Reagents and Catalysts. Chichester: John Wiley & Sons, 1998, p. 385, 537.
80. Патент РФ № 2382025, 2010.
81. Химическая энциклопедия: В 5 т. Т. 1: Редкол.: Кнунянц И.Л. и др. М.: Советская энцикл., 1988, с. 584.
82. *Ross B., Lin A., Harris K., Bhattacharya P., Schweinsburg B.* NMR Biomed., 2003, v. 16, p. 358—369.
83. *Boros L.G., Serkova N.J., Cascante M.S., Lee W.-N.P.* Drug Discov. Today, 2004, v. 1, № 4, p. 435—443.
84. *Harrigan G.G., Brackett D.J., Boros L.G.* Mini-Rev. Med. Chem., 2005, v. 5, № 1, p. 13—20.
85. *Barker R., Serianni A.S.* Acc. Chem. Res., 1986, v. 19, p. 307—313.
86. *Serianni A.S., Vuorinen T., Bondo P.B.* J. Carbohydrate Chem., 1990, v. 9, № 5, p. 513—541.
87. *Физер Л., Физер М.* Органическая химия. Углубленный курс. М.: Химия, 1970, т. I, с. 577—587.
88. *Кочетков Н.К., Бочков А.Ф., Дмитриев Б.А., Усов А.И., Чижов О.С., Шибяев В.Н.* Химия углеводов. М.: Химия, 1967, с. 126—131, 322—330.
89. *Petruš L., Petrušová M., Pham-Huu D.-P., Lattová E., Pribulová V., Turjan J.* Monatsh. Chem., 2002, v. 133, p. 383—393.
90. *Беккер Г., Бергер В., Домике Г., Фангхенель Э., Фауст Ю., Фишер М., Гентц Ф., Говальд К., Глух Р., Майер Р., Мюллер К., Павел Д., Шмидт Г., Шольберг К., Шветлик К., Зейлер Э, Цепенфельд Г.* Органикум. Практикум по органической химии. М.: Мир, 1979, т. I, с. 282—285.
91. *Kato K., Gustavsson S.E., Långström B.* Tetrahedron Lett., 2008, v. 49, p. 5837—5839.
92. *Мэррей А., Уильямс Д.Л.* Синтезы органических соединений с изотопами углерода. М.: Издательский центр «ИЗДАТЕЛЬСТВО ХИМИИ», 1961, ч. I, с. 647—650.
93. *Sowden J.C.* J. Biol. Chem., 1949, v. 55, p. 180.
94. *Schoeps K.-O., Långström B., Stone-Elander S., Halldin C.* Appl. Radiat. Isot., 1991, v. 42, № 9, p. 877—883.
95. Patent SK № 278067, 1995.
96. Патент РФ № 2425051, 2011.
97. *Мосин О.В., Складнев Д.А., Швец В.И.* Биотехнология, 1996, № 10.
98. *Пишеничникова А.Б.* Прикладная биохимия и микробиология, 2002, т. 38, № 4, с. 1—6.
99. *Кляритская И.Л., Цапяк Т.А., Эль Хаули К.М., Мошко Ю.А.* Сучасна гастроентерологія, 2006, т. 31, № 5, с. 4—7.

100. Festi D., Capodicasa S., Sandri L., Colaiocco-Ferrante L., Staniscia T., Vitacolonna E., Vestito A., Simoni P., Mazzella G., Portincasa P., Roda E., Colecchia A. *World J. Gastroenterol.*, 2005, v. 11, № 1, p. 142—148.
101. Химическая энциклопедия: В 5 т. Т. 5: Редкол.: Зефирова Н.С. и др. М.: Большая Российская энцикл., 1999, с. 74—75.
102. Kurhanewicz J., Vigneron D.B., Brindle K., Chekmenev E.Y., Comment A., Cunningham C.H., DeBerardinis R.J., Green G.G., Leach M.O., Rajan S.S., Rizi R.R., Ross B.D., Warren W.S., Malloy C.R. *Neoplasia*, 2011, v. 13, № 2, p. 81—97.
103. Gallagher F.A., Bohndiek S.E., Kettunen M.I., Lewis D.Y., Soloviev D., Brindle K.M. *J. Nucl. Med.*, 2011, v. 52, № 9, p. 1333—1336.
104. Колмановский И.И. Производство двууглекислого натрия (бикарбоната). М.: Химия, 1964, 166 с.
105. Крашенинников С.А. Технология кальцинированной соды и очищенного бикарбоната натрия. М.: Высшая школа, 1985, 287 с.
106. Jain M., Nilsson R., Sharma S., Madhusudhan N., Kitami T., Souza A.L., Kafri R., Kirschner M.W., Clish C.B., Mootha V.K. *Science*, 2012, v. 336, № 6084, p. 1040—1044.
107. Брук Л.Г., Козлова А.П., Маршаха О.В., Ошанина И.В., Темкин О.Н., Калия О.Л. *Изв. АН, Сер. хим.*, 1999, № 10, с. 1899—1905.
108. Темкин О.Н. Гомогенный металлокомплексный катализ. Кинетические аспекты. М.: ИКЦ «Академ-книга», 2008, с. 468—471.
109. Лукьянец Е.А. *Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева)*, 1998, т. 42, № 5, с. 9—16.
110. Патент РФ № 2146667, 2000.
111. Månsson S., Johansson E., Magnusson P., Chai C.-M., Hansson G., Petersson J.S., Ståhlberg F., Golman K. *Eur. Radiol.*, 2006, v. 16, p. 57—67.
112. Патент РФ № 247008, 2012.
113. Перепухов А.М., Кушенков О.В., Эльман А.Р., Овсянникова Л.В., Максимычев А.В. Тр. 55-й научной конф. МФТИ. М.: МФТИ, 2011, с. 183—184.
114. Kleijn R.J., van Winden W.A., Ras C., van Gulik W.M., Schipper D., Heijnen J.J. *Appl. Environ. Microbiol.*, 2006, v. 72, № 7, p. 4743—4754.
115. Rivory L.P., Slaviero K.A., Hoskins J.M., Clarke S.J. *Clin. Pharmacokinet.*, 2001, v. 40, № 3, p. 151—158.
116. Crouzel C., Roeda D., Berridge M., Knipper R., Comar D. *Int. J. Appl. Radiat. Isot.*, 1983, v. 34, № 11, p. 1558—1559.
117. Patent CA № 2448524, 2002.
118. Патент РФ № 2319664, 2008.
119. Cao X., Chappell M.A., Schimmelmann A., Mastalerz M., Li Y., Hu W., Mao J. *Internat. J. Coal Geol.*, 2013, v. 108, p. 53—64.
120. Davies P.W., Martin N., Spencer N. *Beilstein J. Org. Chem.*, 2011, v. 7, p. 839—846.
121. Jasper J.P., Weaner L.E., Hayes J.M. *Pharm. Technol.*, 2007, v. 31, № 3, p. 68—73.
122. URL: <http://geology.indiana.edu/schimmelmann/-index.html>.
123. Ardenkjær-Larsen J.H., Fridlund B., Gram A., Hansson G., Hansson L., Lerche M.H., Servin R., Thaning M., Golman K. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, 2003, v. 100, № 18, p. 10158—10163.
124. Golman K., Ardenkjær-Larsen J.H., Petersson J. S., Månsson S., Leunbach I. *Ibid.*, 2003, v. 100, № 18, p. 10435—10439.