

На правах рукописи

Jalalifar

ДЖАЛАЛИФАР Махди Юсеф

**СИНТЕЗ И ИССЛЕДОВАНИЕ ФОСФОРАМИДНЫХ И
ХЛОРАЛКИЛАМИНОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ ФОСФОРА С
АЛКИЛИРУЮЩИМИ СВОЙСТВАМИ**

02. 00. 03 – органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание учёной степени
кандидата химических наук

ДУШАНБЕ – 2015

Работа выполнена на кафедре органической химии
Таджикского национального университета

Научный руководитель: **Халиков Ширинбек Халикович**
доктор химических наук, профессор

Официальные оппоненты: **Заварзин Игорь Викторович**
доктор химических наук,
профессор, заведующий лабораторией
химии стероидных соединений ФГБУ
Института органической химии
им. Н.Д.Зелинского РАН.
Мухамеджанов Музафар Собирович
кандидат химических наук,
доцент Худжандского государственного
университета им. академика Б.Гафурова

Ведущая организация: Таджикский государственный педагогический
университет им. С. Айни, кафедра органической
и биологической химии

Защита состоится «__» _____ 2016г. в _____ часов на заседании
Диссертационного Совета Д 047.003.02 при Институте Химии им. В.И. Никитина
Академии Наук Республики Таджикистан по адресу 734063, г. Душанбе, ул. Айни,
299/2. E-mail: gulchera@list.ru.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Института химии им. В.И.
Никитина АН Республики Таджикистан и на сайте Института химии им В.И.
Никитина АН Республики Таджикистан www.chemistry.tj.

Автореферат разослан «_____» _____ 2015 г.

Учёный секретарь
диссертационного совета,
доктор химических наук,
профессор



Абулхаев В.Д.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Одной из важнейших задач современной науки является борьба с болезнями злокачественными образованиями, возникающими в результате вирусных инфекции. Как известно, проблема получения лекарственных средств для лечения злокачественных опухолей относится к числу труднейших в науке задач. Поэтому представляет большой интерес получить синтетические препараты хотя и узкого характера действия, но достаточно эффективные. Среди потенциальных противоопухолевых и противораковых средств большое значение имеют так называемые алкилирующие вещества. Алкилирующие агенты - некоторые галоидалкиламины, производные этиленимина.

Алкилирующие реагенты в основном алкилируют различные нуклеофильные группы, такие как $-\text{NH}_2$, $=\text{NH}$, $-\text{PO}_3\text{H}_2$ и другие функциональные группы, образуя поперечные «сшивки» макромолекул ДНК и тем самым препятствуют развитию опухолевых клеток. Например, одним из таких веществ является триэтиленимид фосфорной кислоты и его производные Гио ГЭФ, который применяется для лечения лейкоза, лимфогранулеметоза и даже рака яичников и молочной железы.

Последние лекарства нового типа возникли на основе азот горчицы, которые являются аналогами горчичного газа [бис - (2 - хлорэтил) сульфида], в которой двухвалентный атом серы заменён на трехвалентный атом азота. Было определено, что биологическая активность этих соединений зависит от их способности реагировать одновременно на двух областях молекулы нуклеиновых кислот с основных и фосфатных групп дезоксирибонуклеиновой кислоты (ДНК).

Одним из первых алифатических азотистого иприта нашёл широкое применение N - метил - N, N - бис (2 - хлорэтил) амин, который вводится в виде гидрохлорида доказал свою эффективность в лечении хронической лейкемии, болезни Ходжкина, лимфосаркома рак легких, яичников и молочной железы. Однако, несмотря на доказанный успех, его использование было ограничено из-за высокой токсичности и проявленные неприятные побочные эффекты, которые были связаны с его высокой химической реакционной способности. В этом направлении проводилось и проводятся, интенсивные поиски новых веществ, лекарств и были синтезированы целый ряд производных этого соединения с целью снижения отрицательных качеств препарата и сохранения всех его терапевтических достоинств.

В связи с важностью и значимостью фосфорорганических алкилирующих соединений, мы ставили целью синтезировать и исследовать некоторые новые алкиловые и фениловые эфиры дихлорфосфатов, эфиры алкил 2-(бис-4-нитрофенокси) - фосфориламиноацетата и пропионата, 2,8-дифенил-2,5,8-триазо-1-фосфобицикло [3,3,0] октан-1-оксида, бис - (2- фениламиноэтил) амин гидрохлорида, бис - (2 - фениламиноэтил) амин с хлорокислотой фосфора, фенил-N,N-бис(-2-хлорэтил)-N-фенилфосфородиамида, фенил -N- (4 - фенилпиперазинил) - N- фенилфосфородиамидата, 1 - (2 - хлорэтил) - 2 - фенокси - 3 - фенил - 1, 3, 2 - диазофосфорилидин 2 - оксида, 2 - фенокси - 3- фенил - 1 - винил - 1, 3, 2 - диазофосфорилидин 2 - оксида, n,n-диметиламинобензол, циклофосфоамид, фосфоамид, трифос-

фоамид и другие новые производные фосфорэфирных соединений. Исследовать их алкилирующие и антираковые свойства в условиях *in vivo* и *in vitro*.

Цели и задачи исследования

На основе моно- и дихлорангидридов алкил- и ариловых эфиров фосфорной кислоты синтезировать новые фосфорорганические соединения ряда фосфоамидов, арил-, дихлорэтилзамещенных фенилфосфоамидов аминокислот и дифенилтриазобициклофосфооктаноксидов и ряд алкилирующих фосфорорганических соединений.

В соответствии с целями исследования были сформулированы следующие задачи:

- на основе результатов теоретического прогнозирования и данных литературы осуществить выбор потенциальных фосфорилирующих агентов и осуществить их синтез;
- разработать приемлемые способы фосфорилирования отдельных спиртов, фенолов, аминов, аминокислот и синтезировать соответствующие фосфорорганические соединения с антивирусными и ДНК алкилирующими свойствами.
- осуществить синтез дифенилтриазобициклофосфооктаноксидов;
- провести физико-химическое и биологическое исследования синтезированных фосфорорганических соединений на раковых клетках (*in vitro*) и дать исходную характеристику полученных веществ.

Научная новизна

Проведено упрощение в методике получения алкиловых, фениловых и фенилзамещенных эфиров дихлорфосфата.

Разработаны способы получения новых видов фосфорорганических соединений и впервые синтезированы антираковые производные фосфоамидов аминокислот и фенилфосфородиамидатов.

Разработаны условия циклизации триазосодержащих фосфорных соединений и получены 2,8 – дифенил – 2,5,8 – триазо – 1 – фосфобицикло [3,3,0] – октан – 1 – оксид. Выявлены структурно-функциональные изменения в молекулах полученных фосфорорганических соединений в зависимости от присутствия различных алкильных, арильных и особых функциональных групп.

Для идентификации и структурной особенности синтезированных соединений использованы Масс-, ИК-, ¹НЯМР, ³¹РЯМР, ¹³СЯМР – спектроскопии и рентгенографии.

Показано, что синтезированные соединения являются хорошими алкилирующими реагентами нуклеофильных участков молекулы ДНК – вируса, вызывающий образования раковых клеток, этим останавливают развитие злокачественных опухолей.

Практическая значимость работы

Предложены новые способы получения алкиловых, ариловых и фенилзамещенных эфиров дихлорфосфата, применяемые в реакциях фосфорилирования функциональных групп соответствующих соединений.

Синтезированы алкилирующие и антиопухолевые фосфорорганические соединения ряда алкил, арилзамещенных производных аминокислот и фенилфосфоридамида.

Практической реализацией результатов данных исследований является нахождение новых путей синтеза устойчивых противоопухолевых фосфоамидных препаратов и некоторых их аналогов.

Основные положения, выносимые на защиту

1. Синтезированные новые фосфорорганические производные на основе фенил – N, N – бис (2 – хлорэтил) фосфорамидохлорида – N, N – бис (2 – хлорэтил) амина способны подавлять репликацию опухолевых и раковых вирусов резистных к действию синтезированных алкилирующих фосфорорганических соединений. Противовирусный эффект достигается введением в названных молекул новых алкил-, арил-, аминоалкиловых эфиров фосфорной кислоты и аминокислотных остатков.

2. Установлено, что синтезированные соединения фенил – N, N – бис (2 – хлорэтил) – N – фенилфосфорида, фенил N – (4 – фенилпиперазинил) – N' – фенилфосфорида и 1 – (2 – хлорэтил) – 2 – фенокси – 3 – фенил – 1,3,2 – диазофосфолидин – 2 – оксида являются хорошими алкилирующими реагентами в условиях *in vitro* при взаимодействии на 4–нитробензилпиридина (НБП).

3. Разработанные оптимальные условия синтеза позволили получить фенил – N – (4 – фенилпиперазинил) – N' – фенилфосфорида и 1 – (2 – хлорэтил) – 2 – фенокси – 3 – фенил – 1 – винил – 1,2,3 – диазофосфолидин 2 – оксида с хорошими выходами. Эти соединения обладают, противоопухолевой активностью на человеческих клеточных линиях, замедляя роста вирусных клеток.

4. Структурная особенность, идентичность и молекулярный состав синтезированных соединений, исследованы методами ИК-, ¹НЯМР, ³¹РЯМР, ¹³СЯМР спектроскопии, масс – спектральный, элементный и рентгенографии. Полученные результаты проиллюстрированы на страницах диссертации.

Апробация результатов. Материалы диссертационной работы были опубликованы в материалах Международной научно-практической конференции «Синтез, выделение и изучение комплексных свойств новых биологически активных соединений» (Таджикский национальный университет, октябрь 2012г.). На научно-практической конференции «Вклад биологии и химии в обеспечение продовольственной безопасности и развитие инновационных технологий в Таджикистане» (г. Худжанд, июль 2012 г.).

На международной научно - практической конференции «Комплексный подход к использованию и переработке угля» (г. Душанбе, июнь 2013г.).

Публикации. По материалам диссертации опубликованы 5 статей, из них в ведущих лицензированных научных журналах и изданиях, определенных Высшей аттестационной комиссией РФ - 5 и одна обзорная статья. Опубликовано тезисы докладов на 3-ех международных конференциях.

Личный вклад автора заключается в анализе научной литературы по тематике диссертационной работы, планировании и проведении эксперимента, обобщении полученных экспериментальных данных и подготовке научных статей по теме диссертации.

Объём и структура работы

Диссертационная работа изложена на 110 страницах машинописного текста и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения экспериментального материала, экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы включающие 163 источники.

Работа иллюстрирована 24 рисунками и содержит 16 схем и 8 таблиц.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Синтез дихлорангидридов алкил – и арилфосфорных кислот

Нами осуществлён и разработан примитивный способ синтеза алкил-, арил- и п-хлорарилловых эфиров дихлорзамещенных фосфорной кислоты с помощью трихлороксида фосфора, как фосфорилирующего агента гидроксильной группы спиртов и фенолов (табл. 1).

Гомогенность синтезированных соединений подтверждена с помощью ^{31}P ЯМР спектров.

Фосфорамидные производные – получение и физико - химическое исследование

В литературе отсутствует информация относительно синтеза производных алкилхлорэтил и фенилфосфородиамидов.

Несмотря на труднодоступность синтеза мы решили синтезировать фенил – N, N – бис (2 – хлорэтил) – N' – фенилфосфодиамид). Первым вспомогательным соединением является фениловый эфир дихлорфосфат (1), на который подействовал хлоргидратом β – дихлорэтиламина, получили фенил – N, N – бис (2 – хлорэтил) фосфоамидохлорид (2). Далее подействуя на соединение (2) анилином получили фенил – N, N – бис (2 – хлорэтил) – N' – фенилфосфодиамида (3).

Таблица 1. Дихлорангидриды алкил- и арилфосфорных соединений

Соединение	T. кип, $^{\circ}\text{C}$ (мм рт.ст.)	n_D^{20}	d_4^{20}	Выход, %	^{31}P ЯМР м.д. относительно H_3PO_4 (85%)
$\text{CH}_3\text{O} - \text{POCl}_2$	62-64 (15)			95	8,342
$\text{CH}_3\text{CH}_2\text{O} - \text{POCl}_2$	167 51-60 (10)	1,432	1,380	65	6,218
$\text{C}_6\text{H}_5\text{O} - \text{POCl}_2$	241-243 103-104 (2)	1,5202	1,4135	75	4,338
$4\text{-ClC}_6\text{H}_4 - \text{POCl}_2$	142 123-126 (7)	1,5361	1,5252	58	3,74 2,638
$2,4\text{-Cl}_2\text{C}_6\text{H}_3 - \text{POCl}_2$	126-128 (7)	1,5372	1,5245	68	3,113

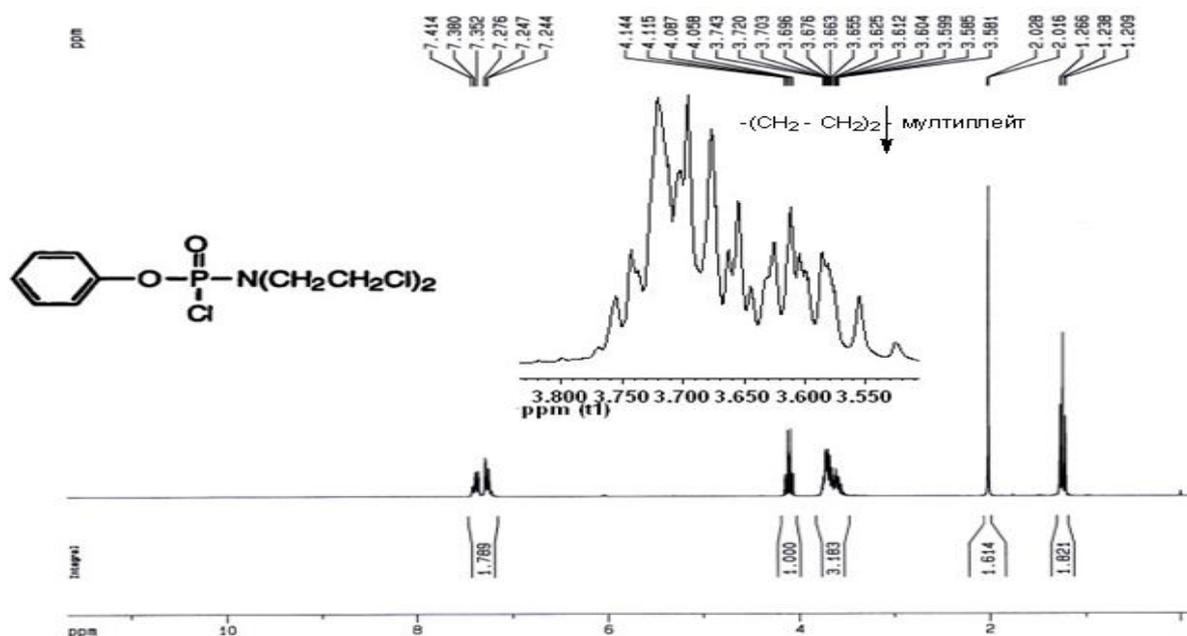


Рисунок 1 - ¹HЯМР – спектр фенил – N, N–бис (2–хлорэтил) фосфорамидохлорида (2) в CDCl₃.

На рис. 1 приводится ¹HЯМР – спектр фенил –N, N–бис (2-хлорэтил) фосфорамидохлорида в CDCl₃. Четкие сигналы 3,55-3,70 м.д. и 5,7-7,36 м.д. свидетельствуют о присутствии фенольного кольца и –CH₂ – групп в данном соединении. На рис. 2 приведены ³¹PЯМР – спектры фенил –N,N–бис (2–хлорэтил) –N– фенилфосфодиамида (3) в CDCl₃. Четкий сигнал, имеющий сдвиг с. δ 5,306 м.д. подтверждает гомогенность соединения (3).

В табл. 3 приводятся результаты элементного анализа синтезированных фенилхлорэтилфосфорамидохлоридных производных, соединений 1, 2, 3.

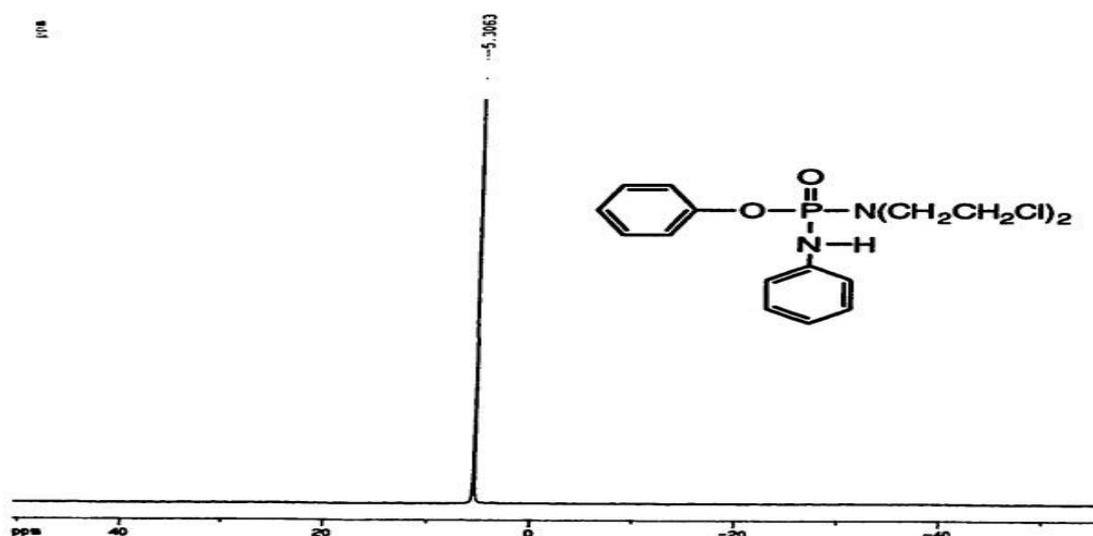


Рисунок 2 - ³¹PЯМР фенил–N, N–бис (2– хлорэтил)–N–фенилфосфодиамида. (3) CDCl₃ (табл.2).

Таблица 3. Результаты элементного анализа синтезированных соединений

Соединение (из табл. 2)	Найдено, %			Брутто формула	Вычислено, %		
	С	Н	Р		С	Н	Р
1	33.98	2.24	14.72	$C_6H_5O_2Cl_2P$ 211	34.12	2.36	14.69
2	38.12	3.18	9.86	$C_{10}H_{10}O_2NCl_3P$ 318.5	38.27	3.18	9.88
3	51.96	4.95	8.41	$C_{16}H_{19}N_2O_2PCl_2$ 373	51.47	5.09	8.30

Структура соединения (3) также подтверждена с помощью 1H ЯМР и ^{13}C ЯМР спектров наличием 3,469 - 3,504, 7,0135 - 7,037, 7,231 - 7,353 и 41,89; 49,51; триплета 76,63, 77,00, 77,350, 128,29, 128,340 и 129,31 соответственно.

Рентгеноструктурный анализ

Кристаллы фенил –N, N– бис (2 – хлорэтил) – N' – фенилфосфодиамида для рентгеноструктурного анализа были выращены из раствора бензола медленным испарением растворителя. Измерение проводилось в растворе $CDCl_3$ (рис. 3).

Уточнение структуры проводилось по интенсивностям зональных рефлексов. После уточнения длины связей и размеров валентных углов молекулы фенил –N,N – бис(2–хлорэтил) –N'– фенилфосфордиамида, найдены значения близкие к общепринятым «стандартным» величинам. Исключение составляла длина связи C – NH (1,39 Å), которая оказалась на 0,08 Å меньше длины обычной одинарной – CN связи. Причина такой аномалии заключается в образовании водородной связи между

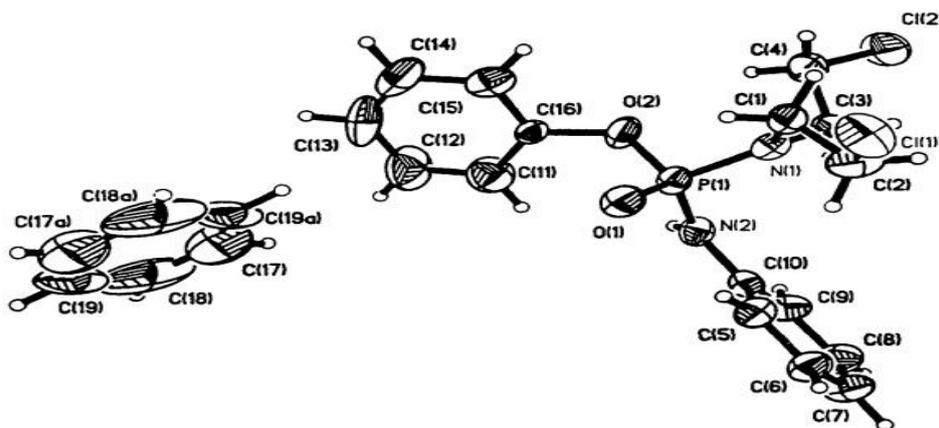


Рисунок 3 - Кристаллическая структура сольватированного фенил –N,N– бис (2–хлорэтил)–N'– фенилфосфодиамида в $CDCl_3$ (3).

кислородом P=O группы и водородом NH–группы. В молекуле выделяются две плоские фенильные группы, которые расположены друг от друга на некотором

расстоянии, занимая антисимметричные расположение. Плоскостные расположение бензольного кольца эфирной части отличается от анилиновой части, т.е. получается две плоские группировки атомов, входящих в бензольные кольца, лежащие перпендикулярно относительно друг к другу. Средняя длина связей (С–С) бензольного кольца равна 1,37Å. Это значение близко к средним длинам аналогичных связей в структурах ароматических производных бензола. Что касается аминодихлордиэтильной части молекулы, то она расположена под углом ~ 17,4° относительно Р – N = и Н – NH связей. Атомы хлора, взаимоотталкивая друг друга, создают широкий угол времени.

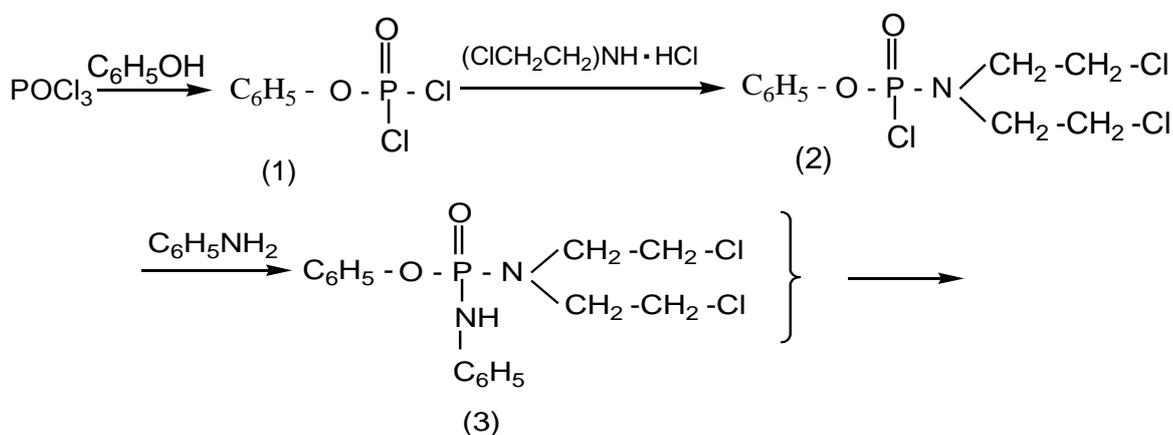
Следует отметить, что структурные особенности фенил – N,N – бис (2 – хлорэтил) – N' – фенилфосфодиамида (3) в СДCl₃, который был получен с помощью рентгеноструктурного анализа, показывают расположение в пространстве отдельных групп в молекуле.

Особенности бензольных групп, которые отдалены друг от друга и расположены несимметрично принимают зональный характер.

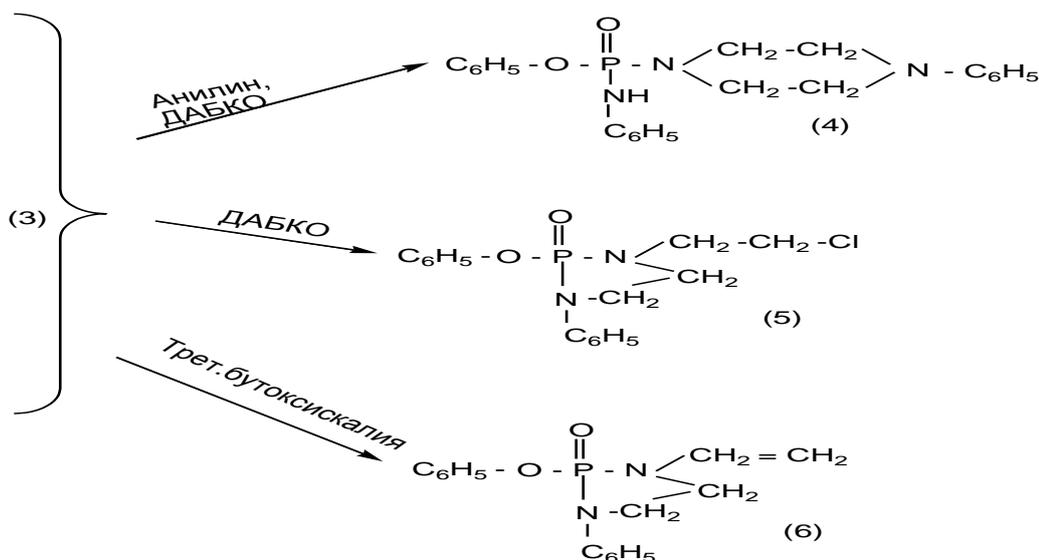
Синтез и исследование фенил – N,N – бис (2 – хлорэтил) – N' – фенилфосфодиамида (3) в СДCl₃

В результате присоединения фенола с фосфорилхлоридом в диэтиловом эфире в присутствии триэтиламина был получен фенил фосфордихлорида (соед.1, схема А) со значительным выходом. Данный продукт был превращён в фенил – N, N – бис (2 – хлорэтил) – фосфоамидохлорида (2), действием фенилфосфодихлорида на – N, N бис (2– хлорэтил) – NH гидрохлорида в присутствии хлористого метилена получен с выходом до 92%, строение которого доказано с помощью ³¹РЯМР – спектроскопии. Действием на соединение (2) анилином в тетрагидрофуране, получили фенил – N, N– бис (2 – хлорэтил) – N' – фенилфосфородиамидат (3), продукт кристаллизовался в бензоле с выходом 63%.

Схема А



(продолжение схемы А)



При исследовании ^1H ЯМР и ^{13}C ЯМР спектров соединения (3) было установлено, что радикал фенил вошел в структуру кристаллической решетки. Чтобы доказать это, кристаллы этого соединения были получены медленным испарением растворителя. Рентгеновский анализ структуры кристалла показал положение бензола в растворяющем кристалле в кристаллической структуре (число 1).

Соединение (3) реагировало с анилином и ДАБКО (диазобисцикло [2, 2, 2 октан]) с целью получения фенил -N-(4-фенил) пиперазинил -N'-фенилфосфодиамидата (соед. 4) и 1,5 - циклизации продукта реакции, 1-(2-хлорэтил) - 2-фенокси - 3-фенил - 1,3,2-диазофосфолидин 2-оксида (соед.5).

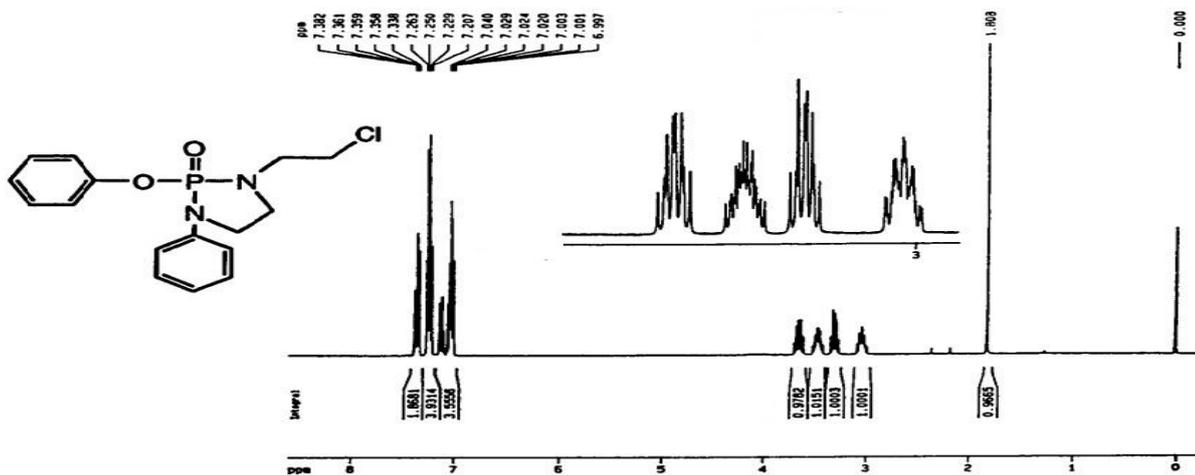
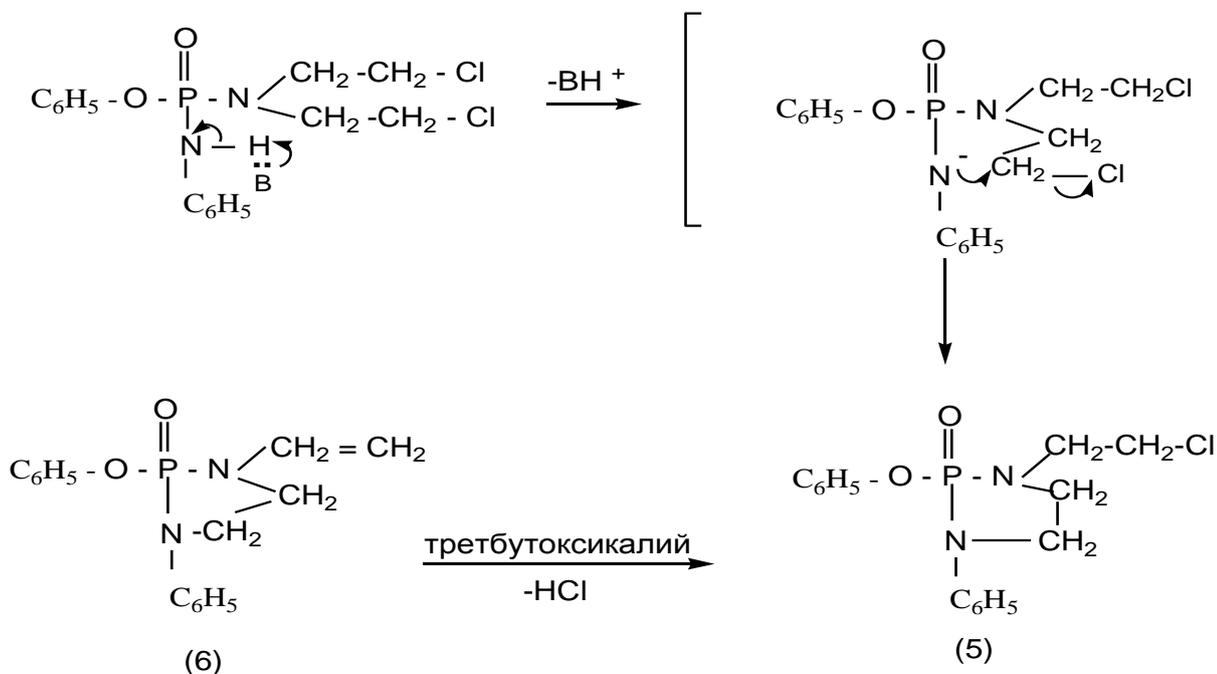




Рисунок 5 - ^{31}P ЯМР – спектр смеси продуктов (6) из схемы реакции (А) (стр. 11).

Сравнение ^1H ЯМР продукта (3) с ^1H ЯМР соединений 5 (рис. 4 и 5) показывает, что калий с δ 5,3063, из-за анилинового водорода, отсутствует в соединении (5). Выход соединения (5) составлял 35%. Из соединения (3), действием трет – бутаоксида калия, получили 2 – фенилокси – 3 – фенил – 1 – винил – 1, 3, 2 – диазофосфолидин 2 – оксида (6), который является результатом устранения HCl от 2 – хлорэтильной группы (5), согласно схеме реакции:

Схема В



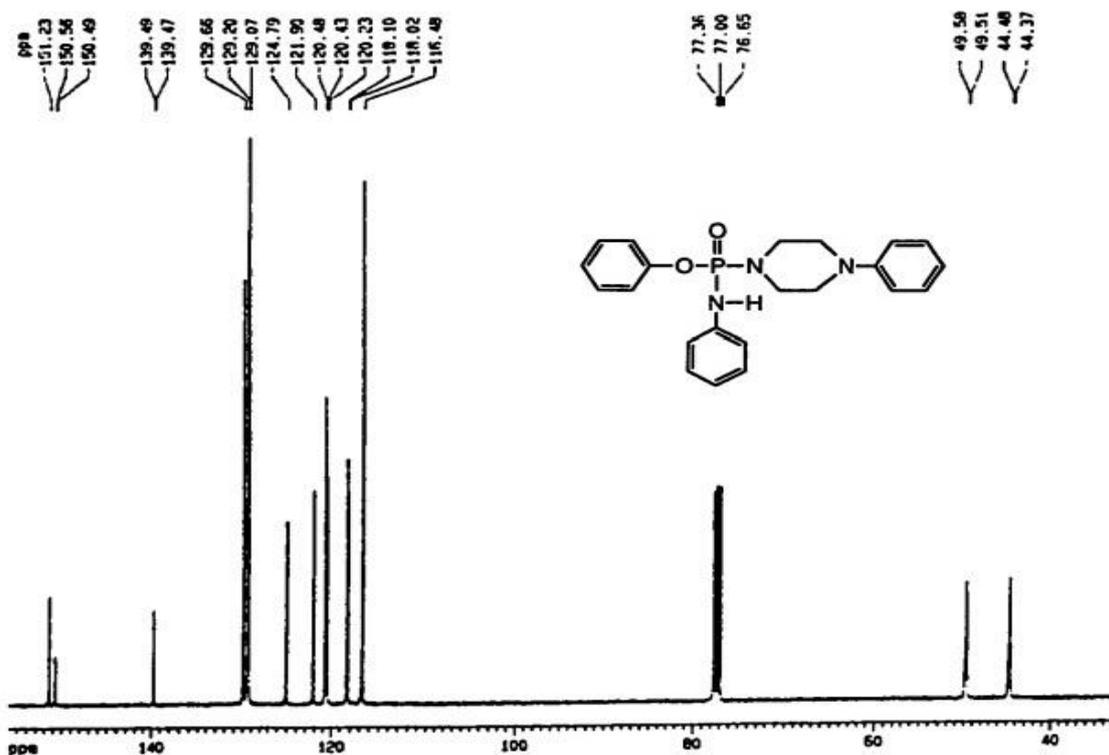


Рисунок 6 - ¹³СЯМР – спектр соединения (4), фенил –N– (4 – фенил) – пиперазинил – N'– фенилфосфодиамидата.

³¹РЯМР-спектр смеси реакции показал, что в дополнение к ожидаемому продукту ($\delta = 13$ м.д.) появился другой продукт с $\delta = 8$ м.д. (рис. 5). На рис. 6 приведен ¹³СЯМР-спектр соединения (4) фенил – N – (4 – фенил) – пиперазинил – N – фенилфосфодиамидата, где присутствуют соответствующие сдвиги сигналов отдельных групп, характерных данному соединению. На рис. 7 приведен масс-спектр соединения (4), фенил – N – (4 – фенил) – пиперазинил – N' – фенилфосфородиамида, соответствующего молекулярной массе данного соединения. На рис. 8 приведен ¹³СЯМР - спектр соединения (5) 1 – (2 – хлорэтил) – 2 – фенокси – 3 – фенил – 1,3,2 – диазофосфорилидина. Данный спектр полностью характеризует строение данного соединения. На рис. 9 приводится ³¹РЯМР - спектр соединения (5) 1 – (2 – хлорэтил) – 2 – фенокси – 3 – фенил – 1, 3, 2 – диазофосфорилидина, показывающий единый сдвиг со сдвигом 13,470 м.д., свидетельствующий об идентичности полученного вещества. На рис. 10 приводится ¹³СЯМР - спектр соединения (6) схема (В), присутствующие сигналы соответствующих групп, входящих в молекулу данного соединения.

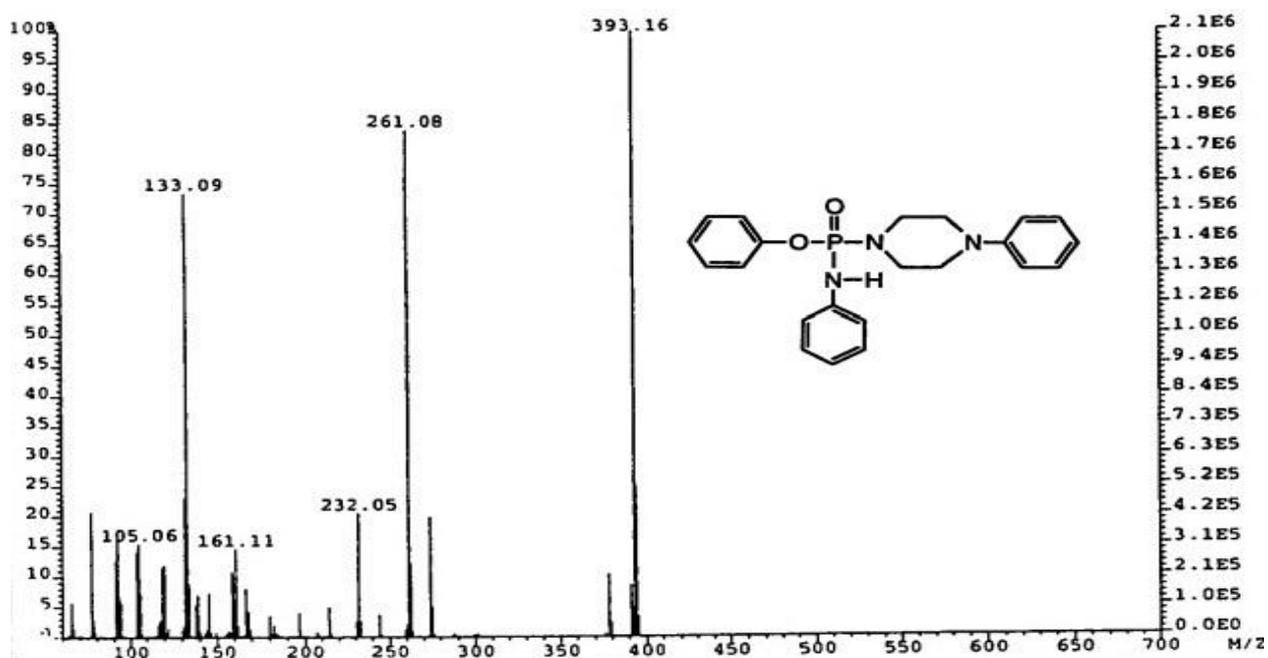


Рисунок 7- Масс- спектр соединения 4(схема А), фенил-N-(4 -фенил)- пиперазинил-N'-фенилфосфодиамидата.

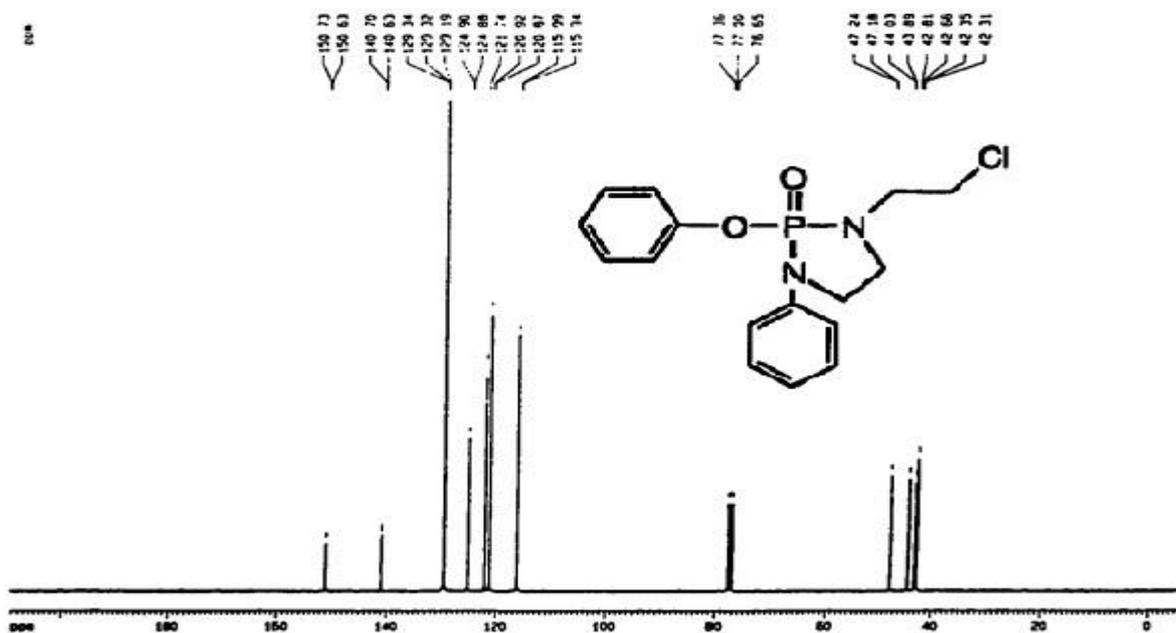


Рисунок 8 - ^{13}C СЯМР – спектр соединения (5), 1 -(2 – хлорэтил) –2– фенилокси –3– фенил –1,3,2– диазофосфорилидина – 2 – оксида.

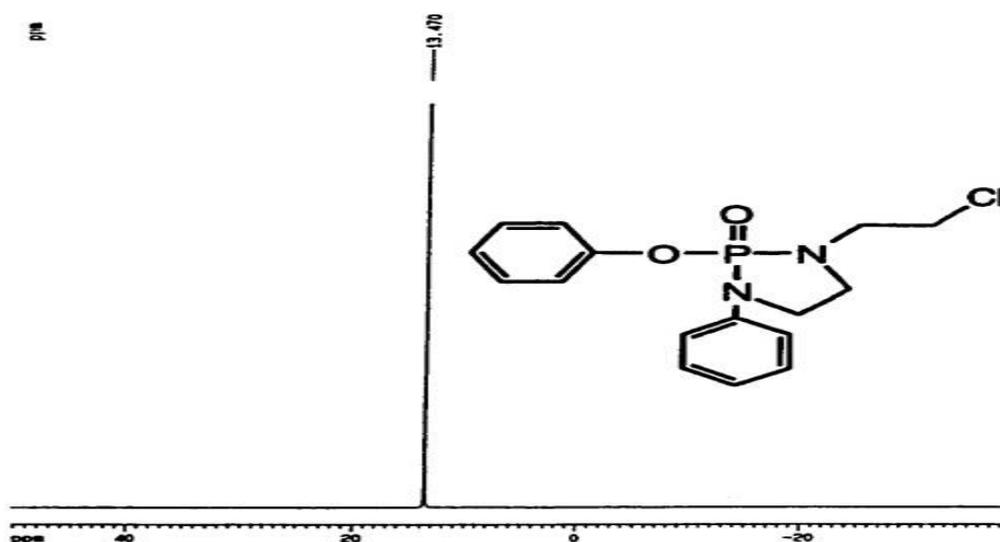


Рисунок 9 - ^{31}P ЯМР - спектр соединения (5), 1 – (2 – хлорэтил) – 2– фенилокси – 3– фенил – 1,3,2 – диазофосфорилидина – 2 – оксида.

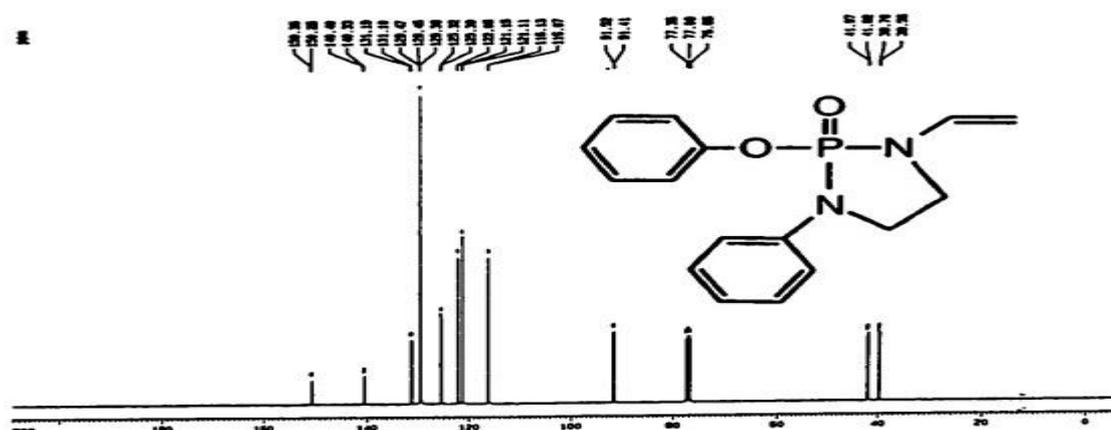
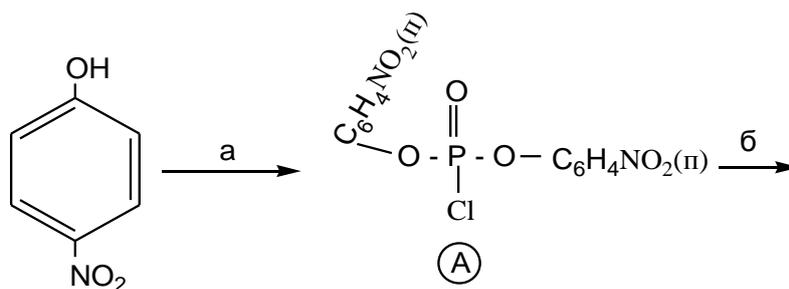


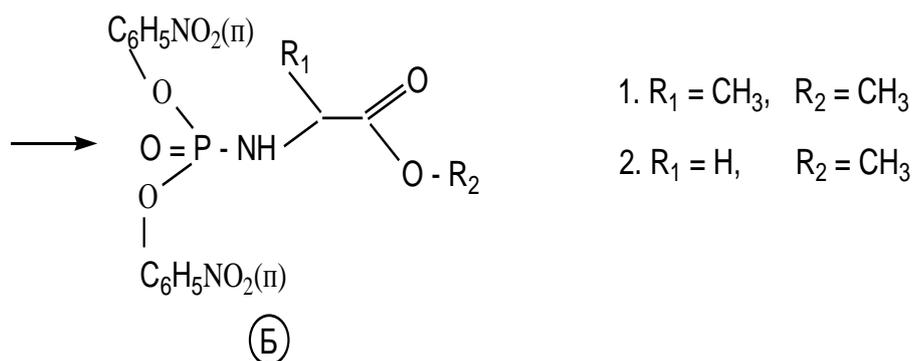
Рисунок 10 - ^{13}C ЯМР – спектр соединения (6) (стр. 13).

Фосфорамидные производные аминокислот

Нами синтезирован и изучен фосфорамидные производные включающие разные аминокислоты и их эфиры.

Реакция протекает по следующей схеме:





1. $R_1 = \text{CH}_3$, $R_2 = \text{CH}_3$

2. $R_1 = \text{H}$, $R_2 = \text{CH}_3$

Данная схема представляет синтез бис –(п – нитрофенил) алкиловых эфиров аминокислот фосфоамидов. а) POCl_3 (0,5 экв.), Et_3N (1 экв.). 0°C , б) $\text{HCl} \cdot \text{NH}_2 - \text{CH}(\text{R}) - \text{COOR}'$.

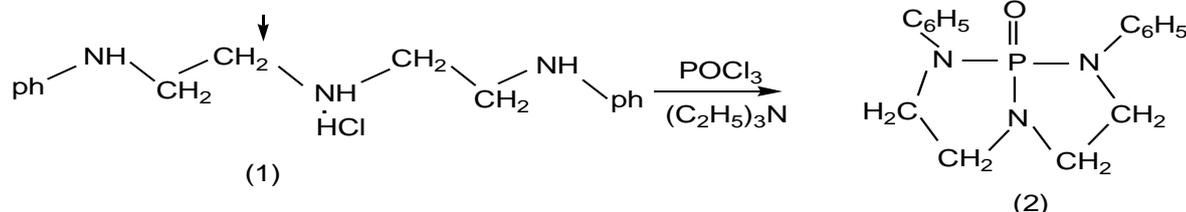
Данный способ позволяет сократить выполнение дополнительных работ, время прохождения реакции и уменьшить процесс протекания рацемизации. Состав и строение фосфоамидов (табл. 4) подтверждены элементным анализом и данными спектров ИК-; ^1H ЯМР и ^{31}P ЯМР. В ИК - спектрах амидов наблюдаются характерные полосы $\text{P}=\text{O}$ - поглощения ($1215 - 1230 \text{ см}^{-1}$) и NH -поглощения в области $3100-3200 \text{ см}^{-1}$. В спектрах ^{31}P ЯМР амидов сигналы NH -протонов смещены в более слабое поле и соответствуют 3,62 м.д. В спектрах ПМР сигналы NH -протонов представляют собой дублеты в области 8,64 – 7,90.

Таблица 4. Выходы, константы и данные элементного анализа синтезированных соединений

Название соединения	Т. кип. $^\circ\text{C}$ (мм)	n_D^{20}	d_4^{20}	Выход, %	Брутто формула	Найдено %			Вычислено %		
						C_1	H	P	C	H	P
Метилловый эфир 2-бис(4-нитрофенокси) аминокислоты фосфорилпропионата (I)	68-70 ($1 \cdot 10^{-4}$)	1,4850	1,1140	85	$\text{C}_{16}\text{H}_{16}\text{O}_9\text{N}_3\text{P}$ (425)	44,88	3,68	7,38	45,18	3,77	7,30
Метилловый эфир 2-бис(4-нитрофенокси)фосфорил-аминоацетата (II)	60-62 (1,5)	1,4760	1,0938	80	$\text{C}_{15}\text{H}_{14}\text{O}_9\text{N}_3\text{P}$ (411)	43,20	3,33	7,60	43,80	3,41	7,54
Этиловый эфир 2(бис(4-нитрофенокси)амино)фосфорилпропионата (III)	109-111 (1,5)	1,2930	1,1092	61,25	$\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{O}_9\text{N}_3\text{P}$ (439)	46,52	3,95	7,15	46,47	4,10	7,06
Триэтил-N-фенилимидофосфата (IV)	138-135 (3)	1,5521	1,11	58	$\text{C}_{12}\text{H}_{20}\text{NO}_3\text{P}$	55,66	7,84	12,30	6,04	7,76	12,08
Диэтил-N-метиланилидофосфата (V)	100 (1,5)	1,5080	1,1340	38-40	$\text{C}_{11}\text{H}_{18}\text{NO}_3\text{P}$	54,09	7,42	12,82	54,30	7,45	2,70

Две стадии синтеза 2,8-дифенил-2,5,8-триазо-1-фосфобицикло [3,3,0]октан 1-оксида

Нами синтезирован 2,8-дифенил-2,5,8-триазо-1-фосфобицикло [3,3,0] октан -1-оксид. Эта реакция состоит из циклизации мономера, который открыл путь к интересным гетероциклическим системам, служащим для разведочных работ. Реакция состоит из следующих стадий:



Все эксперименты с водно-чувствительными реагентами проводились в среде сухих безводных растворителей и реактивов. Когда было необходимо растворить ангидрид, реагенты были растворены в следующих растворителях: $(C_2H_5)_3N$, $C_2H_5OC_2H_5$, гексане и хлористом метиле, высушивая с кипячением над CaH_2 в течение нескольких часов и перегонкой кроме ТЭА. Всегда после прибавления триэтиламина основную фазу высушивали с помощью активированных 4А молекулярных сит. Все спиртовые фракции перегоняли после активации 4А над мол. ситом. Реакции контролировали с помощью ТСХ и визуализировали УФ – светом с использованием н-гексана и этилацетата 7:3 (объём/объём) и эфира с гексаном (3:1) в качестве элюента.

Характеристика 2,8-дифенил-2,5,8-триазо-1-фосфобицикло [3,3,0] октан -1-оксида (2)

Исследование 1H ЯМР – спектра компонента показало, что в молекуле содержится ароматический протон водорода, состоящий из двух наборов мультиплетной линии ($\delta=7.16-7.22$, 8H; $\delta=6.93-6.97$, 2H). Мультиплет проявляется с низким слабым полем и соответствует орто- и мета- атомам водорода. Мультиплет, проявляющийся в сильном поле, связан парами атома водорода.

^{31}P ЯМР – спектры присущи только для 4-ёх линий спектров фенильного кольца. Данный ЯМР свидетельствует о присутствии двух фенильных эквивалентных колец. Эти эквивалентные фенильные кольца имеют симметричную структуру в молекуле. Исследование с помощью ^{31}P ЯМР – спектров показало слабое поле сдвига резонанса (10). Из данных полученных ниже слабого поля вытекает, что азот анилина не в полной мере имеет вклад электронов в атом фосфора, который был бы охвачен в случае жесткой структуры за счёт покрытых орбиталей расположенных

сзади плоскости. Потому, что возникшая симметрия в компоненте может быть сохранена в случае кольцевого строения.

Дипольный момент соединения (2) на основе эксперимента был измерен в бензоле при 30⁰С и установлен в области 5,61D. Теоретически дипольный момент рассчитывается путем AM 1 (астин метод 1) – полуэмперическим методом из двух вкладов: точка-заряд = 3,6584 СП гибридные =1,826 D, который даёт полный дипольный момент 5,48D. Это считается вполне сопоставимым с 5,61D полученным экспериментально в растворе бензола в то время как расчёты по газовой фазе близки значениям, указывающим на взаимодействие растворенного вещества с растворителем.

Исследование дипольных моментов (поляризуемость)

1. Дипольный момент соединения 2,8 – дифенил – 2,5,8 – триазо – 1 – фосфо-бицикло [3,3,0] октан –1– оксида по сравнению с другими соединениями содержит P=0 группы. Значение 4,2 и 4,59 D в растворе бензола по отношению к трифенилфосфиноксиду (Mc 3P=0) 4,34 и 4,53 D, для трифенилфосфиноксида (ph 3P=0) 4,30 и 4,31 D для (Mc2N) 3P=0 триамидгексаметилфосфорной кислоты. Одно из возможных объяснений является бициклизация с атомом фосфора, который в плацдарм положении создает фосформации при этом положении, что приводит к большой поляризации P = 0 связи с большим косвенным моментом низкого значения N(1)-pN(2) и N(2) - pN(2) валентных углов 98,8⁰. Появление на это напряжение атомных зарядов - 1,089 на кислород и на фосфор - 2,770 дополнительно подтверждает эту поляризацию.

2. Молекулярная структура.

Сравнение длины связей и валентных углов, определяется из значения дипольных моментов и одного измерения кристаллической структуры, которые показывают, что соответствующие значения очень близки указаниям жёсткости бициклической скелетной структуры. Чуть большие различия присутствуют в ориентации фенильного кольца по отношению к бициклическому скелету. За исключением различий между ориентациями двух фенильных колец, имеется плоскость симметрии через атом фосфора, кислорода в пространстве атома азота для обеих структур, что с кристаллической структурой и с присутствием метиленовых водородов на соседних атомах углерода, создающий приближенные шахматные позиции, Н/Н несвязанных взаимодействием, который заставит обе из пятичленных кольца из бициклического скелета принять сморщенную конформацию как в циклопентане, как показывают рентгеновские кристаллические структуры (рис. 11).

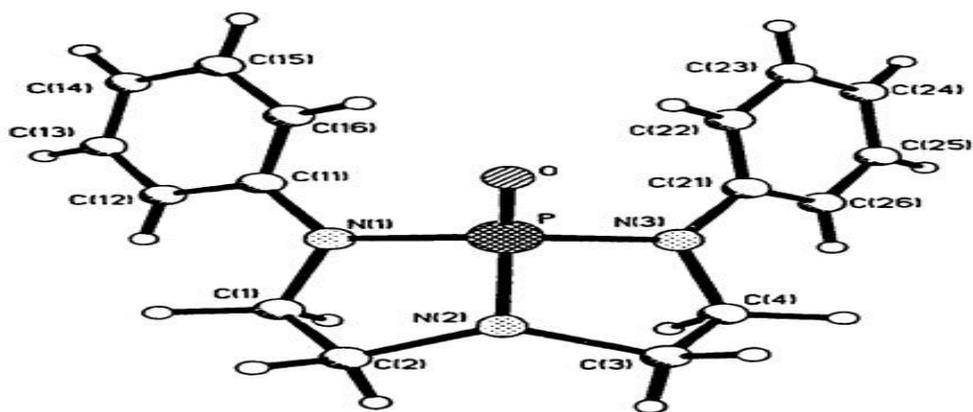
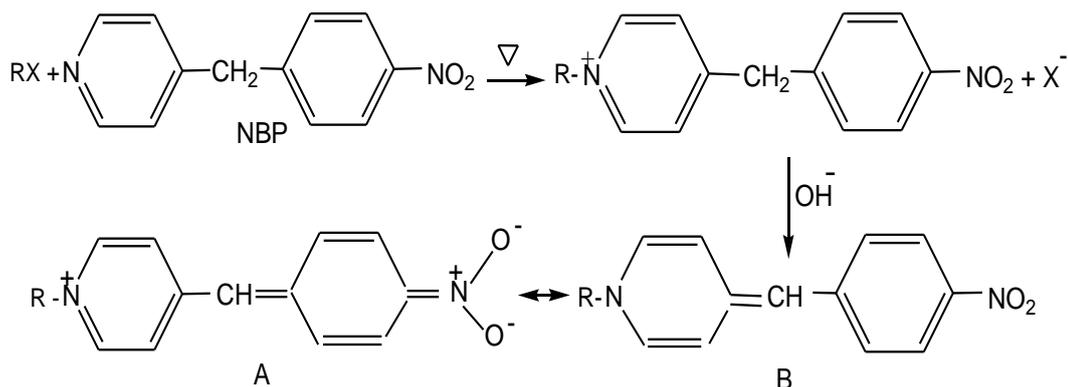


Рисунок 11- Структура кристалла 2,8-дифенил- 2,5,8-триазо-1-фосфобичкло [3,3,0] – октан -1-оксида в CDCl_3 .

Тестирование в пробирке (*in vitro*) путём алкилирования 4-(4-нитробензилпиридина) (НБП) синтезированными фосфорорганическими соединениями

IV.1. НБП [4-(4-нитробензил) пиридин] был алкилирован синтезированными фосфорорганическими соединениями в качестве модификатора. Ранее алкилирование НБП при 66°C какими – либо компонентами не было изучено. Реакция алкилирования НБП проводилась при 80°C , почему-то при этом, не наблюдалось алкилирование НБП. Однако процесс алкилирования НБП протекает по схеме, приведенной внизу, и этот процесс сопровождается образованием двух резонансных форм: А и Б.



В фенилфосфордиамидной и триамидной форме, атом азота в молекуле становится слабоосновным. Поэтому формирование азиридин иона кажется маловероятным. Учитывая этот факт можно было отказаться от процесса алкилирования НБП. Однако опыты показали, что алкилирование в условиях пробирки (*in vitro*) и в

естественных условиях (*in vivo*) может, протекать по-разному. Было бы лучше, если бы компоненты были способны в условиях *in vivo* превращаться в продукт производного азиридин иона и далее произвести устойчивый алкилированный НБП.

2. Синтезированные компоненты фенил N, N – бис(2 – хлорэтил) –N'– фенилфосфодиамида (3) (стр. 10), фенил –N – (4 – фенил) пиперазинил –N– фенилфосфодиамидата (4) (стр. 11) и продукт реакции 4,5 – циклизации, 1 – (2 – хлорэтил) – 2 – фенокси – 3 – фенил – 1,3,2 – диазофосфорилидин – 2 – оксида (5) (стр. 11) были использованы в качестве алкилирующих агентов. Для исследования процесса алкилирования, используемые алкилирующие агенты были растворены в диметилсульфоксиде для приготовления 2 мкМ раствора, 4 – (4 – Нитробензилпиридин (НБП) был растворен в ацетоне, для приготовления 50 мкЛ раствора. В типичном эксперименте, НБП (1мл) в дистиллированной воде (950 мкЛ) был поставлен в трубке с винтовым колпачком и помещен в тест камеру. Затем, перемешивая их периодически и охлаждая льдом, к этой смеси был добавлен раствор алкилирующего агента (50мл) и трубочка с колпачком заново закрывалась.

Содержимое трубки перемешивали и трубку поглубже помещали в термостат при температуре 66⁰С. Контрольный раствор приготовили с отдельными трубками для алкилирующих агентов. Остальные трубки наполнялись алкилирующими агентами и контрольная трубка была заполнена ацетоном. Для каждого алкилирующего агента были подготовлены восемь образцов и восемь контрольных растворов. Для установления интервала времени, набор образцов и контрольных растворов был перенесен из ванны и немедленно помещён в ледяную ванночку в течение 1 минуты для подавления реакции.

Этилацетат (1 мл) и 0,3 м NaOH (1 мл) прибавляли к основному раствору, и смесь помещали в воду, термостатированную при 20⁰С в течение пяти минут. Перемешивая и тщательно используя вихревую микстуру, центрифугировали в течение 3-х минут и отделяли фазу. Верхний ацетатный слой отделяли из пустого и использовали для спектрофотометрии в УФ - области. После этого регистрировали спектр поглощения ацетатного слоя, содержащего алкилирующий агент.

Этот эксперимент не был бы выполнен, если не было бы различия в адсорбциях между образцом и контрольными (Clank) при 66⁰ и 80⁰С.

Противоопухолевое тестирование в условиях *in vitro*

Некоторые из синтезированных алкилирующих соединений были испытаны в Тегеранском университете Медицинских наук. Также были изучены взаимодействия составов против 60 клеточных линий. Из проверенных соединений 3, 4, и 5 (стр. 10-11) два состава (4, 5) показали активность против широкого диапазона клеточных линий. Эти составы были активными даже в ядовитых дозах.

Соответствующие данные показывают, что проверенные составы способствуют образованию матрицы для ответа.

Проверка на антираковую активность была проведена на 60 человеческих клеточных линиях, опухоли были выбраны из - за для их способности вступать в реакцию последовательно в условиях испытания.

Иллюстрация. На рис. 12 показаны три скупые графы (нулевое, минусовое и плюсовая) GI 50, оценивающие три состава 3, 4 и 5 соответствующих соединений. GI 50 концентрация препарата, приводящая к 50%-му запрещению роста клетки. Результаты, которых были вычислены от кривых ответа дозы. Скупой GI 50 для каждого состава был вычислен для всех 60 опухолевых клеточных линий. Различие между GI 50 для специфической клеточной линии и скупым GI 50 установлено в лаборатории университета. Клеточные линии, которые были более чувствительными, показаны как бары, которые проектированы справа от скупого. Несколько клеточных линий особенно чувствительны к этим 2 агентам (Легкое EKVX, Легкое NCI-H 322M, Яичниковый IGROV1, Яичниковый SK-OV-3, Почечный ACHN, Почечный ТК-10, Грудь МДА MB-468). Клеточные линии, которые были менее чувствительными, показаны слева от бара. Таким образом, препараты показали способность замедлять как дифференциацию, так и пролиферацию клеток.

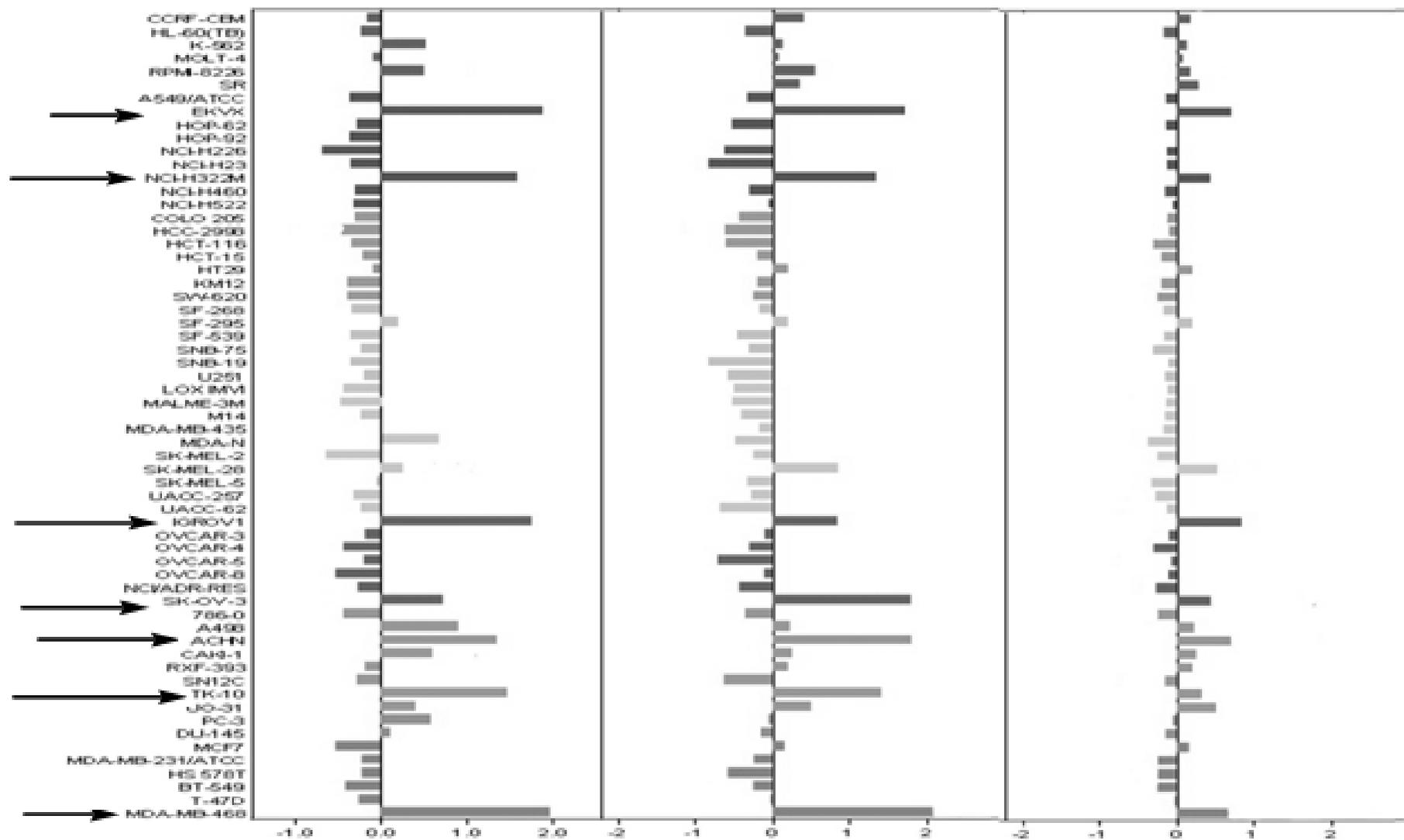


Рисунок 12- Антираковая диаграмма синтезированных алкилирующих соединений 3, 4 и 5 (стр. 11-12) против 60-человеческих клеточных линий злокачественной опухоли.

ВЫВОДЫ

1. Найден доступный способ синтеза алкил, арил, *n*-хлорарилловых эфиров дихлорзамещенных фосфорной кислоты с помощью трихлороксида фосфора, как фосфорилирующего агента гидроксильной группы спиртов и фенолов.
2. Осуществлён труднодоступный синтез алкилирующего реагента фенил-*N,N*-бис(2-хлорэтил)-*N*-фенилфосфодиамида, фенил-*N*-(4-фенил)пиперазинил – *N* – фенилфосфодиамида и 1-(2-хлорэтил)-2-фенокси-3-фенил-1,3,2-дiazофосфорилидин-2-оксида полученный модификацией «горчицы», как противоопухолевый препарат.
3. Проведено упрощение способа получения фосфоамидных производных аминокислот, заключающееся в одновременном и спонтанном взаимодействии применяемых компонентов в одной реакционной среде, приводящее к синхронному получению конечного продукта. В результате были синтезированы метиловые, этиловые эфиры *N* – производных динитрофенилфосфоаминокислот и алкил –*N*-метил (фенил) имидофосфаты.
4. Для синтеза 2,8-дифенил –2,5,8- триазо –1- фосфобицикло [3,3,0] октан –1-оксида разработаны условия циклизации мономера гидрохлорида-бис-диэтиламинадифениламин. Установлено, что важную роль в реакции циклизации играют применяемые растворители, обезвоженные с помощью гидрида кальция.
5. Используемые в работе методы ИК, ¹НЯМР, ³¹РЯМР, ¹³СЯМР спектроскопии, масс-спектральный, элементный и рентгеноструктурный анализы, позволили получить важные информации относительно гомогенности и структуры полученных соединений.
6. С помощью рентгеноструктурного исследования уточнено расположение отдельных групп в структуре кристаллического состояния 2,8-дифенил –2,5,8- триазо –1-фосфобицикло [3,3,0]-октан –1-оксида и фенил-*N,N*-бис(2-хлорэтил) –*N*-фенилфосфоамида. Установлены конформационные состояния этих соединений.
7. Синтезированные соединения, такие как: фенил-*N*-(4-фенил)пиперазинил-*N*-фенилфосфодиамидата, 1-(2-хлорэтил)-2-фенокси-3-фенил-1,3,2-дiazофосфорилидин-2-оксида показали себя хорошими алкилирующими агентами при испытание на противоопухолевую активность на 60 человеческих клеточных линиях (*in vitro*), проявляя большую чувствительность к процессу замедления роста клетки, что влияет, как на процесс дифференциации, так и на пролиферацию клеток.

ПУБЛИКАЦИИ

1. **Джалалифар, Махди.** Синтез фосфоамидных производных аминокислот – основа для создания новых противовирусных препаратов / **Махди Джалалифар**, Ш.Х. Халиков // Вестник Таджикского национального университета. –2012. – 1/1 (77). – С.156-158.
2. **Jalalifar, Mahdi.** Synthesis of Ethyl and Phenyl Amido (Ethoxyphenylalaninyl) Phosphate Compounds / **Mahdi Jalalifar**, Abdollah Javidan, Shirinbek Khalikov // Asian Journal of Chemistry. – 2012. – V. 24, – № 3. – P. 1097-1100.
3. **Jalalifar, Mahdi.** Synthesis of Some Cyclophosphorodiamidates Derivatives of Bis (2–chloroethyl) amine / **Mahdi Jalalifar**, Abdollah Javidan, Shirinbek Khalikov // Asian Journal of Chemistry. – 2013. – V. 25. – № 11.– P. 5985-5988.
4. **Jalalifar, Mahdi.** Two – step synthesis of 2,8 – Diphenyl – 2,5,8 – triaza – 1 – phosphabicyclo [3,3,0] Octane 1– oxide / **Mahdi Jalalifar**, Shirinbek Khalikov // International Journal of modern Organic Chemistry. Florida, USA. – 2012. – 1(2). – P. 129-135.
5. Khalikov, Shirinbek. Synthesis and evaluation of cyclic and noncyclic phosphoramidate nitrogen mustards / Shirinbek Khalikov, **Mahdi Jalalifar**, Abdollah Javidan // Вестник Таджикского национального Университета. –2013. –1/3(110). – P.122-134.
6. Khalikov, Shirinbek. Synthesis of Ethyl and Phenyl Amido (Ethoxyphenylalaninyl) Phosphate Compounds / Shirinbek Khalikov, **Mahdi Jalalifar**, Abdollah Javidan // Материалы международной конференции, посвященной 50–летию кафедры органической химии Таджикского национального университета. Душанбе. – 2011. – P. 141-152.
7. **Джалалифар, Махди.** Синтез фенил N, N – бис – (дихлорэтил) –N–фенилфосфодиамида / **Махди Джалалифар**, Ш.Х. Халиков // Материалы республиканской научно – практической конференции, посвященной 80 – летию ХГУ им. акад. Бободжона Гафурова и 80 – летию факультета биологии и химии. Худжанд. –2012. – С. 234 -235.
8. Khalikov, Shirinbek. Synthesis and evaluation of cyclic and noncyclic phosphoramidate nitrogen mustards / Shirinbek Khalikov, **Mahdi Jalalifar**, Abdollah Javidan // International Journal of modern Organic Chemistry. (Survey) Florida, USA. – 2013. – 2 (2). – P. 171-190.

*Разрешено к печати 14.10.15г.
Подписано в печать 15.10.15г.
Бумага офсетная. Формат 60x84 1/16.
Гарнитура литературная. Печать офсетная.
Усл. печ. л 1,5. Тираж 100 экз.*

*Отпечатано в ООО «Авесто»,
г.Душанбе, проспект Рудаки, 20*