

Sinteza i određivanje fizičko-hemijskih parametara O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata

Mr Boban Ceković, dipl.inž.¹⁾
Mr Zoran Luković, dipl.inž.¹⁾
Dr Bratislav Jovanović, dipl.inž.²⁾

Prikazana je sinteza O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata od 2,2-dimetilciklopentanona i metildifluorofosfonske kiseline. Strukture međuprodukta i sintetisanog jedinjenja su potvrđene primenom IR, GC/MS i NMR-H¹ spektrometrije. Izvršeno je određivanje fizičko-hemijskih parametara O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata: tačke ključanja, napona pare, gustine i rastvorljivosti u vodi. Ispitana je toksikološka osobenost i određena relativna toksičnost O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata.

Ključne reči: Visokotoksične materije, organofosforna, organofosfatna jedinjenja, IVA, GP, O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonat.

Uvod

U grupu organofosforinih jedinjenja (OFJ) spadaju supstance sa izrazitom sposobnošću inhibicije enzima acetilholinesteraze, koji vrši razgradnju neurotransmitera acetilholina, što dovodi do akumulacije inače toksičnog acetilholina u organizmu i pojave holinergičkih simptoma (simptoma dejstva acetilholina) kao pokazatelja intoksikacije organizma s mogućim smrtnim posledicama. Te supstance čine grupu visokotoksičnih jedinjenja holinoinhibitorskog (tzv. nervoparalitičkog) dejstva.

Jedna od manje poznatih varijanti OFJ nervoparalitičkog dejstva iz takozvane grupe G (estri metilfluorofosfonske kiseline oblika CH₃ROP(O)F) su jedinjenja sa tipičnom cikloalkilnom oksikomponentom molekula [1]. Iz ove grupe su sintetisani pojedini predstavnici od kojih su najin-teresantniji oni sa alkilsubstituentima u cikloalkil-grupi, jer kod njih treba očekivati veću toksičnost a verovatno i druge specifičnosti vezane za postojanost, stabilnost, hidrofobnost i dr.

Hidrofobna cikloalkil-grupa obezbeđuje veću postojanost od somana (O-(1,2,2-trimetilpropil)-metilfluorofosfonat – predstavnik OFJ iz grupe G), što navodi na pretpostavku da u ovoj grupi treba tražiti predstavnika "srednje isparljivih agenasa" (IVA – intermediate volatility agents) za koje se smatra da popunjavaju raspon isparljivosti između standardnih OFJ nervoparalitičkog dejstva tipa G i V (O-alkil-S-dialkilaminoalkilmetiltiofosfonati). Pri tome su najzanimljiviji agensi sa 2,2-dimetilciklopentil i cikloheksil grupom [2,3].

Predmet istraživanja je bila sinteza jednog od predstavnika visokotoksičnih nervoparalitičkih OFJ – O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata i ispitivanje njegovih osnovnih fizičkih i toksikoloških svojstava.

Teorijski deo

Proučavanje organofosforinih jedinjenja dovelo je do razvoja specijalnih oblasti hemije. Otkriveno je mnoštvo jedinjenja, od kojih su neka toksična a neka netoksična. Njihove farmakološke osobine nisu interesovale samo vojne toksikologe već i biohemičare, medicinske i farmaceutske istraživače [1,4,5]. Zahvaljujući organofosforinim jedinjenjima došlo se do novih saznanja iz oblasti prenošenja nadražaja u nervnom sistemu i razjašnjenja uzajamne povezanosti pri dejstvu određenih biokatalizatora.

Sva navedena jedinjenja potvrđuju pretpostavljenu opštu formulu Schroedera (I) za biološki aktivna jedinjenja petovalentnog fosfora koja deluju kao holinoesterazni inhibitori [1,2]:



gde su:

- X i Y – alkoksi, aroksi, alkilaminoalkoksi, alkil, aril ili alkilamino grupe, a
- Z – radikal koji ima osobine kiselinskog ostatka (praktično acil-grupa), kao – halogen, CN, S(CH₂)_nSRⁿ, S(CH₂)_nNRⁿ, holin-grupa i dr.

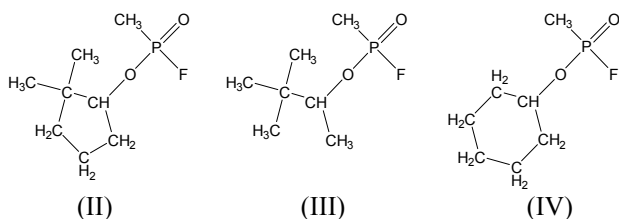
Strukturne korelacije O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata sa somanom (GD) i ciklosarinom (GF)

Uzimajući u obzir strukturu O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata (II) može se uočiti sličnost sa somanom (III) i ciklosarinom (O-cikloheksilmetilfluorofosfonatom) (IV) da bi mogle da se pretpostave

¹⁾ Vojnotehnički institut VJ, 11000 Beograd, Katanićeva 15

²⁾ Tehnološko-metalurški fakultet, 11000 Beograd, Karnegijeva 4

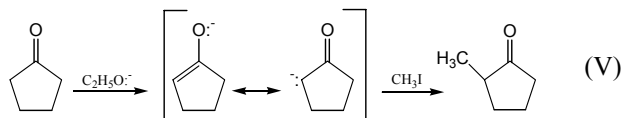
osobina sintetizovanog jedinjenja [1,2,6,7].



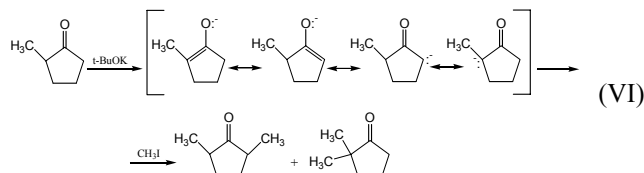
Na osnovu strukturne sličnosti, može se očekivati i visok stepen sličnosti u hemijskom i toksikološkom pogledu, a u fizičko-hemijskom pogledu treba očekivati manju isparljivost i rastvorljivost, veću lipofilnost i približnu hidrolitičku stabilnost. Naime, isparljivost sarina (O-izopropilme-tilflu-oro-fosfonat – predstavnik OFJ iz grupe G sa najvišom isparljivošću) je 16400 mg/m³, somana 3060 mg/m³, a VX (O-etil-S-(diizopropilaminoetil)-metiltiolofosfonat – pred-stavnik OFJ iz grupe V sa niskom vrednošću isparljivosti) 12 mg/m³, što znači da je sarin isparljiviji od somana 6 puta a soman od VX čak 250 puta, te stoga soman i nije u potpunosti agens srednje isparljivosti pa se, radi iznalaženja pravog IVA agensa i vrše istraživanja čiji su rezultati ciklosarin (GF) i O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonat.

Mogućnosti sinteze agenasa GP tipa

Kao polazna materija u literaturi se za sintezu uzima (u ovom slučaju) ciklopentanon, pri čemu je opšta šema prvog stepena metilovanja prikazana prema sledećem [8-10] :



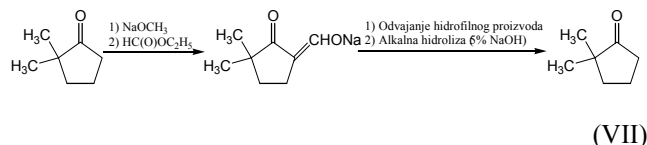
U prvom koraku metilovanja metil-jodidom, za deprotonizaciju ketona može da se primeni i slabija baza kao što je etoksid-anjon. Međutim, za dalje metilovanje etoksid nije više dovoljno jaka baza za deprotonizaciju ketona. Zato se u drugom stepenu alkilovanja mora primeniti jača baza, kao što je npr. natrijum-amid što je u početnim istraživanjima i rađeno. Kao dovoljno jaka baza za deprotonizaciju ketona za metilovanje metil-jodidom, i u prvom i u drugom stepenu, primenjen je kalijum-terc.-butilat pri čemu se drugi stepen metilovanja odvija prema šemi (VI).



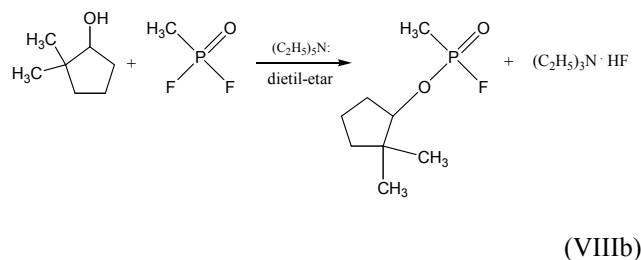
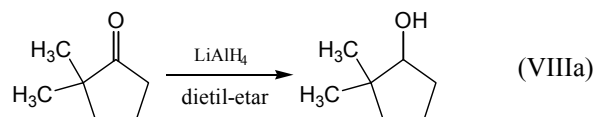
Kao što se vidi iz reakcione šeme problem je bio u tome što su pored dimetilovanog produkta u α -položaju (2,2-dimetilciklopentanona) pri metilovanju dobijani i drugi dimetilovani produkti od kojih je najprisutniji 2,6-dimetilciklopentanon, pri čemu je njihovo potpuno razdvajanje standardnim laboratorijskim metodama vrlo teško. Zbog toga je problem selektivnog alkilovanja samo jednog od α -položaja ketona rešavan na različite načine.

Selektivna alkilovanja, uz zaštitu jednog od α -položaja ketona derivacijom daju dobre rezultate, ali su skupa i tehnološki složena [11-14]. Na primer, derivacijom osnovnog ketona u 2-hidroksimetilenketon, prevođenjem istog u 2-n-butiltiometilenski derivat i alkilovanjem u

prisustvu jake baze, dolazi do građenja α -n-butiltiometilen α' -mono- i dialkilketona, koji se alkalnom hidrolizom oslobađaju n-butiltiometilenskog niza i prelaze u 2-monoalkil i 2,2-di-alkilketone. Druga varijanta sinteze čistih 2,2-dimetilde-rivata zasnovana je na sposobnosti cikličnih 2,2-di-metilketona da sa etilformijatima grade hidrosolubilne alkalne formil-derivate:



Jedinjenja s metil-grupama u oba α -položaja ne grade formil-derivate pa se zadržavaju u organskoj fazi u nepromenjenom obliku. Sledeća dva stepena reakcije sinteze su redukcija ketona u odgovarajući alkohol, primenom litijumaluminijum-hidrida (VIIIa) a zatim uobičajena reakcija esterifikacije alkohola s metilfosfonil-difluoridom (VIIIb) [6]:



S obzirom da je na raspolaganju bio čist 2,2-dimetilciklopentanon (čime je izbegnuto dobijanje smeše polimetilovanih ciklopentanona pri metilovanju), eksperimentalni rad je bio usmeren na iznalaženje optimalnih uslova za njegovo prevođenje u odgovarajući alkohol, kao i njegovu optimalnu esterifikaciju, radi postizanja što veće čistoće O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata i da bi se ispitivanje njegovih svojstava izvršilo što tačnije.

Eksperimentalni rad

Hemikalije

U eksperimentu su korišćene sledeće hemikalije:

- 2,2-dimetilciklopentanon, Aldrich, 96 % ,
- litijumaluminijum-hidrid, p.a.,
- metildifluorofosfonska kiselina, p.a., destilovana,
- trietilamin, p.a., sušen na kalijum-hidroksidu, zatim destlovan,
- dietiletar, p.a., prethodno sušen elementarnim natrijumom,
- amonijum-hlorid, 2 % rastvor u dest.vodi,
- natrijum-hlorid, zasićeni rastvor (36g/100g H₂O),
- natrijum-sulfat, p.a., Zorka Pharma
- dekontaminant: 5% natrijum-hidroksid u smeši voda: etanol 10:1 (v/v),
- puferi pH 7,02 ± 0,01, 4,00 ± 0,01 (na 20°C), Zorka Pharma i Radiometer,
- 5,5'-ditiobis-2-nitrobenzoeva kiselina (DTNB), p.a.,

Merck,

- butirilholinesteraza (BuChE), poreklom iz konjskog seruma, suva, liofilizirana, proizvedena na *PMF* Beograd, aktivnosti oko 200 IU/mg,
- butiriltioholin-jodid (BuSchJ), p.a., *Merck*,
- kalijumdihidrogen-fosfat, p.a., *Riedel-de Haën*,
- 2-propanol, p.a. *Riedel-de Haën*.

Pripremljeni su sledeći rastvori:

- fosfatni pufer pH 7, koncentracije 0,05 mol/dm³ (pripremljen mešanjem 6,804 g KH₂PO₄ u 500 cm³ destilovane vode (0,100 mol/dm³) titrisan rastvorom NaOH uz pH--metar i mešanje do pH 7 i zatim dopunjen do 1000 cm³ destilovanom vodom),
- osnovni rastvor BuChE dobijen rastvaranjem u destilovanoj vodi, koncentracije manje od 1 mg/cm³,
- indikatorski rastvor, koncentracije 0,25 mol/dm³ (pripremljen rastvaranjem 5 mg DTNB u do 50 cm³ prethodno pripremljenog fosfatnog pufera pH 7),
- rastvor supstrata, koncentracije 1·10⁻² mol/dm³ (pripremljen rastvaranjem 77,4 mg BuSchJ u destilovanoj vodi do 25 cm³),
- radni rastvor **A** pripremljen dodavanjem određene zapremine osnovnog rastvora BuChE u normalni sud od 10cm³ i dopunjavanjem fosfatnog pufera do crte,
- radni rastvor **B** koji predstavlja smešu rastvora supstrata i rastvora indikatora u odnosu 1:2 (v/v).

Metode

Redukcija 2,2-dimetilciklopentanona

Redukcija 2,2-dimetilciklopentanona u odgovarajući alkohol je izvedena primenom litijumaluminijum-hidrida kao redukcionog sredstva. U trogrli reakcioni balon od 250 cm³, snabdeven termometrom za niske temperature, povratnim kondenzatorom sa kalcijumhloridnom cevčicom, levkom za dodavanje i magnetnom mešalicom, sipano je 50 cm³ dietil-etra. U etar je dodato 1,22 g litijumaluminijum-hidrida. Nakon toga je izmereno oko 7,0 g 2,2-dimetilciklopentanona i rastvoreno u 10 cm³ etra i sipano u levak za dodavanje. Reakcioni balon je uronjen u kupatilo sa smešom vode i leda i izvršeno je dokapavanje etarskog rastvora ketona. Posle dokapavanja i ispiranja levka za dodavanje i nakon uklanjanja kupatila s ledom temperatura reakcione smeše je podignuta do laganog refluksa (30 do 35°C), u trajanju od 2 h. Nakon što je odstajao preko noći, reakcioni balon je ponovo uronjen u kupatilo s ledom. Levkom za dodavanje je izvršeno pažljivo dokapavanje ledene destilovane vode do prestanka oslobađanja vodonika (≈ 1h). U reakcionu smešu se doda još 10 cm³ etra i ukloni kupatilo. Zatim se u reakcionu smešu doda 5 cm³ 2% vodenog rastvora amonijum-hlorida za razbijanje taloga aluminijum-hidroksida. Nakon intenzivnog mešanja ostavljeno je da se slojevi razdvoje u levku za odvajanje. Nakon razdvajanja faza, ispiranja i sušenja, etarski sloj je zatim izdvojen ceđenjem kroz filter. Kombinovani etarski ekstrakt je uparen, a zatim je ostatak predestilovan pod sniženim pritiskom (26,6 mbar) pri tački ključanja od 80 do 90°C dajući čist 2,2-dimetilciklopentanol. Produkt je pripremljen za IC spektroskopsku analizu.

Esterifikacija metilfluorofosfonske kiseline i 2,2-dimetilciklopentanola.

Sinteza O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata je izvršena po modifikovanom laboratorijskom postupku za sintezu OFJ ovog tipa [6].

U trogrli reakcioni balon od 100 cm³, snabdeven termometrom, povratnim kondenzatorom, levkom za dodavanje i magnetnom mešalicom, sipano je 2,3 g metildifluorofos-

*Određivanje izvršeno na ovaj način zbog nemogućnosti rada sa piknometrom (potrebna veća količina O-2,2-dimetilciklopentil)-metilfluoro-fosfonata)

fonske kiseline, rastvorene u 10 cm³ dietiletra, a zatim preliveno s još 35 cm³ etra. U levak za dodavanje je sipano tačno 2,31 g trietilamina i 2,6 g 2,2-dimetilciklopentanola, rastvorenih u 20 cm³ etra. Uz održavanje temperature reakcione smeše u kupatilu s ledom i vodom na 5 do 10°C, pažljivo je izvršeno dokapavanje sadržaja levka za dodavanje. Levak za dodavanje je ispran etrom, koji je dosut u reakcionu smešu. Nakon dokapavanja smeša je zagrejana do laganog refluksa (35°C), koji je održavan 2-3 h. Nakon stajanja preko noći, reakciona smeša je filtrirana i preneti u aparat za vakuum destilaciju. Nakon uparavanja etra na atmosferskom pritisku, ostatak se destilise pod sniženim pritiskom od 26,6 mbar, na 102°C, dajući glavnu količinu O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata. Čist produkt je pripremljen za GC/MS i NMR-H¹ spektrometrijsku analizu.

Uslovi za kvalitativno dokazivanje O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata primenom GC/MS spektrometrije su bili sledeći:

- GC-MS – Varian Saturn II
- GC kolona – DB-5 (kapilarna, 30m×0,25 mm, 1 μm stac.sloj),
- temperatura injektora – 260°C, kolone – 80-260°C (10°C/min), MS det.(Ion trap) – 250°C.

Uslovi za kvalitativno dokazivanje O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata primenom NMR-H¹ spektrometrije su bili sledeći:

- NMR-H¹ – Gemini 200 "hfnar"
- rastvarač – CDCl₃
- temperatura – 20°C.
- ispitivano za H¹ na 200 MHz

Određivanje gustine O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata

Iz balona od 25 cm³ termostiranog na 25 ± 0,1°C mikropipetom (prethodno proverenom destilovanom vodom – greška ±0,1%) se uzme određena zapremina (oko 100 μl) O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata, prene-se u čašu poznate mase i izmeri masa na analitičkoj vagi*.

Gustina je izračunata kao aritmetička sredina iz pet ponovljenih merenja.

Određivanje rastvorljivosti

Pripremi se UV/VIS merni sistem *GILFORD* Impact 400E za rad u programu merenja koncentracije OFJ nervnopalitičkog dejstva enzimskom metodom. U reakcioni stakleni sud s poklopcem i magnetnom mešalicom i mogućnošću termostatiranja, doda se 5cm³ destilovane vode (pH 5,5-6,5). Nakon stabilizovanja određene temperature (tačnost održavanja zadate temperature ±0,2°C.) u reakcioni sud je mikropipetom ubačeno 85-100 μl O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata uz mešanje ≈5 min. Početna koncentracija O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata u reakcionoj smeši bi iznosila, u slučaju potpunog rastvaranja, između 0,018 i 0,021 mol/dm³, odnosno 0,093- 0,110 g/cm³. Nakon 5 min mešalica se isključi i ostavi 1 min da se umiri reakciona sredina. Iz reakcione posude se zatim, mikropipetom sa središnjeg nivoa, uzme alikvot od 100 μl i razblaži u 2-propanolu do 50 cm³, a zatim se odatle uzme alikvot od 34,8 μl i razblaži u

destilovanoj vodi do 250 cm^3 , odakle se uzimaju uzorci (početne koncentracije $\approx 3 \text{ ng/cm}^3$) kojima se u uređaju *GILFORD Impact 400 E* mere apsorbancije i vrši očitavanje aktivnosti holinesteraze na osnovu kojih se, s baždarnog dijagrama, određuje koncentracija O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata (na osnovu njegove interakcije sa radnim rastvorima **A** i **B**).

Vršeno je i uporedno određivanje koncentracije rastvorenog O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata na-kon centrifugiranja na sledeći način: iz reakcione posude se prenese 2 cm^3 reakcione smeše u odgovarajuću kivetu i u centrifugi *JANETZKI T32c*, podešenoj na oko 1000-2000 o/min i vreme od 2-3min, izvrši centrifugiranje i nakon toga pripreme uzorci za *GILFORD Impact 400 E* na isti način kao i necentrifugirani uzorci i izvrši određivanje aktivnosti i koncentracije prema baždarnom dijagramu.

Određivanje toksičnosti O-(2,2-dimetilciklopentil)metilfluorofosfonata*

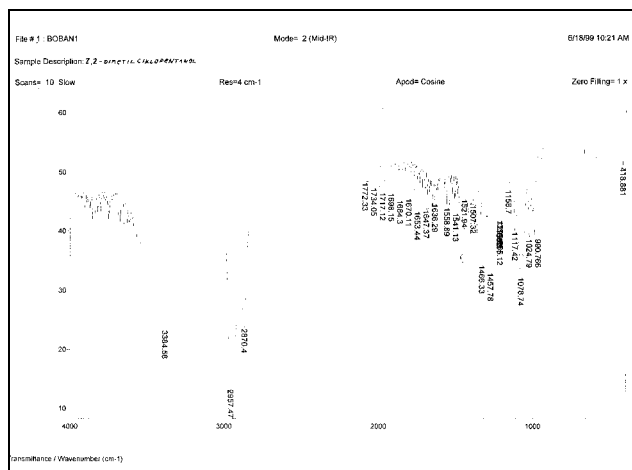
Pripremi se, kao osnovni, 10% rastvor O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata u 2-propanolu i izvrše razblaženja do 0,1 % (ili $\sim 1 \text{ mg/cm}^3$) rastvora koji se uzima kao radni. Pripreme se grupe od po 4 pacova (beli laboratorijski pacovi u polnoj zrelosti, mase 400-600 g, bez obzira na pol). Uzimajući u obzir pretpostavku da je O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonat po toksičnosti blizak somanu (ili toksičniji) prvo razblaženje radnog rastvora je urađeno do $70 \mu\text{g/cm}^3$ (vrednost za soman prema literaturi [1]). Prvoj grupi se ispod kože (subkutano) ubrizga određena zapremina rastvora O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata, koncentracije $70 \mu\text{g/cm}^3$, u odnosu na telesnu težinu ($1 \text{ cm}^3/\text{kg}$ pacova) i posmatra reagovanje. Ukoliko svi pacovi uginu, svakoj sledećoj grupi se daje manja koncentracija sve dok se ne postigne doza od koje polovina pacova preživi. Na osnovu koncentracije i zapremine ubrizganog rastvora O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata kao i prosečne težine pacova, određuje se letalna doza – LD_{50} . Radi provere rada primenjen je isti postupak i za soman i VX, za koje postoje vrednosti poznate u literaturi [1,2].

Rezultati i diskusija

Sinteza O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata

U prvom koraku je izvršena redukcija 2,2-dimetilciklopentanona primenom litijumaluminijum-hidrida kao jakog redukcionog sredstva, čime se težilo postizanju većeg prinosa od ukupno 80,6% (maseno).

S obzirom da se pošlo od poznatog jedinjenja bilo je dovoljno dokazati prisustvo hidroksilne funkcionalne grupe, što je i urađeno primenom IC-spektrofotometrije (spektar dat na sl.1).



Slika 1. IR - spektar 2,2-dimetilcikloheksanola

*Određivanje toksičnosti izvršeno u Nacionalnom centru za kontrolu trovanja VMA u Beogradu

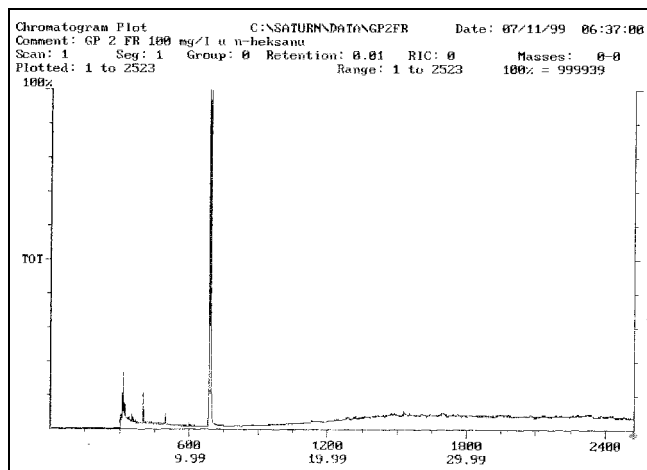
Najistaknutiji pikovi (apsorpcione trake) IC-spektra 2,2-dimetilciklopentanola su sledeći:

- položaj $3384,58 \text{ cm}^{-1}$ ($2,95 \mu\text{m}$) karakterističan za valentne vibracije O–H veze kod kojih postoje intermolekulske vodonične veze,
- položaj $2957,47 \text{ cm}^{-1}$ ($3,38 \mu\text{m}$) karakterističan za valentne vibracije alkana (CH_3, CH_2),
- položaj $2870,4 \text{ cm}^{-1}$ ($3,48 \mu\text{m}$) koji predstavlja pomerenu valentnu vibraciju C–H veze karbonil-ugljenika
- apsorpciona traka na položaju $1466,33 \text{ cm}^{-1}$ ($6,82 \mu\text{m}$) karakteristična za deformacione vibracije alkanovih metilen-grupa ($-\text{CH}_2-$).

Za sintezu O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata primenjena je standardna laboratorijska metoda dobijanja OFJ nervoparalitičkog dejstva G tipa pri čemu je ostvarena visoka čistoća zahvaljujući čistoći polaznih reaktanata. Prinos je iznosio prosečno $\approx 72\%$.

Uzimajući u obzir da se radi o sintezi jedinjenja, koje nije opisano u literaturi van ove ustanove, bilo je neophodno izvršiti analize koje će potvrditi strukturu O-(2,2-di-metilciklopentil)-metilfluorofosfonata. Primljena je GC/-MS i NMR- ^1H spektrometrijska analiza.

Sa gasnog hromatograma, prikazanog na sl.2, može se videti da je hromatografska čistoća sintetisanog jedinjenja iznad 98%. Razdvojenost osnovnog pika ukazuje na postojanje stereoizomerije što je, posmatrajući pretpostavljenu strukturu, potpuno jasno jer jedinjenje ima dva asimetrična centra (P i C-1) analogno somanu [7], pa se sastoji od dva para diastereoizomera, što dovodi do razdvajanja pika ($\text{RT}=11,42$ i $11,52$ min).



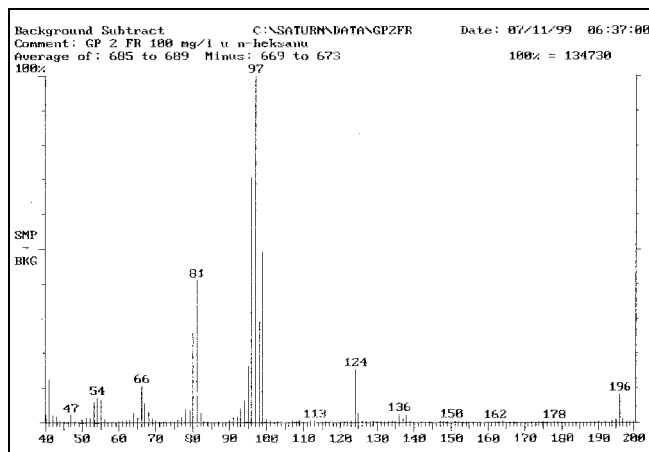
Slika 2. Gasni hromatogram O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata

EI-MS fragmentacioni spektri O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata su prikazani na sl.3. Molekulski joni nisu vidljivi obzirom da se jedinjenje, kao i većina OFJ G-tipa, pod EI uslovima (70 eV) prvo fragmentuju na P-O-C nizu.

Najintenzivniji pikovi ukazuju na sledeće strukture:

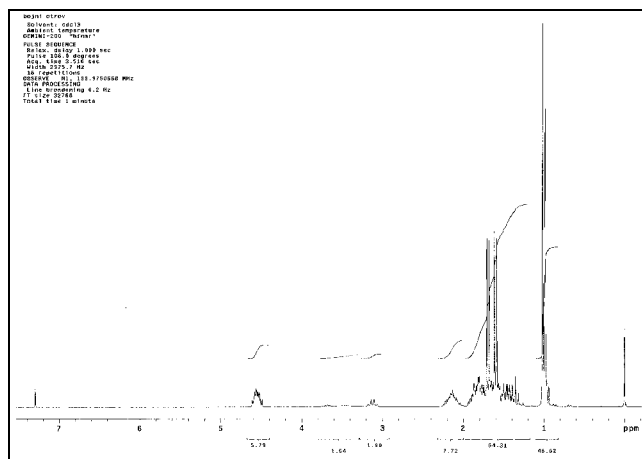
- m/e=99 je dokaz fosfonske grupe CH₃O₂FP ali,
- mnogo je intenzivniji m/e=97 koji je dokaz CH₃O₂FP fragmenta,
- dokaz (CH₃)₂C₅H₇ fragmenta je m/e=96,
- m/e=81 ukazuje na CH₃OFP dok,
- m/e=80 ukazuje na CH₂OFP fragment
- m/e=66 je dokaz ciklopentadienilskog C₅H₆ fragmenta.

Fragmenti nižih m/e su manje ugljovodonične strukture.



Slika 3. Maseni spektar O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata (prvi pik)

Na sl.4 prikazan je NMR-H¹ spektar. Vrednosti hemijskog pomeranja kvarteta $\delta=1,585-1,707$ ppm ukazuju na kuplovanje protona metil-grupe s fosforom i fluorom. Vrednosti pomeranja dubleta $\delta=0,982$ ppm i $\delta=1,016$ ppm ukazuju na metil supstituente u 2-položaju ciklopentil grupe ispitivanog jedinjenja, pri čemu treba uočiti da se pik na $\delta=0,982$ ppm razdvaja u dublet koji bi mogao da ukazuje na neko daljinsko kuplovanje, što bi trebalo dalje ispitati. Multiplieti koji se nalaze između $\delta=1$ ppm i $\delta=2,2$ ppm ukazuju na metilenske protone u ciklopentil grupi. Najveće hemijsko pomeranje je kod protona vezanog za karbonilni ugljenik, gde nalazimo multiplet između $\delta=4,5$ ppm i $\delta=4,6$ ppm.



Slika 4. H¹-NMR spektar O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata

Određivanje tačke ključanja O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata na atmosferskom pritisku

Za određivanje tačke ključanja na atmosferskom pritisku primenjena je jednačina za korekciju tačke ključanja na normalnom pritisku [15]:

*Uzimajući u obzir molekulska masa somana (182,2) čija je tačka ključanja 198 °C (167 °C), može se konstatovati da je tačka ključanja O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata u skladu sa porastom molekulske mase, odnosno u skladu sa očekivanjem.

** ΔP_{KP} somana izračunat po navedenoj metodi iznosi 168,38 Pa, što se, obzirom na literaturni podatak [1] na 20°C i, uzimajući u obzir porast napona pare sa temperaturom, može smatrati realnim.

$$\Delta t = \frac{[(273,1 + t)(2,8808 - \log p)]}{[\phi + (2,8808 - \log p)]} \quad (1)$$

gde su :

- Δt – razlika temperature koju treba dodati utvrđenoj tački ključanja na sniženom pritisku, °C,
- t – temperatura ključanja na sniženom pritisku, °C (102°C),
- p – sniženi pritisak utvrđene tačke ključanja, mm Hg (20 mm Hg),
- ϕ – entropija isparavanja pri 760 mm Hg koja se određuje grafički za određenu grupu jedinjenja (3.grupa) [15].

Izračunata vrednost Δt u datom slučaju iznosi 113,8°C dajući tačku ključanja na standardnom pritisku 215,8°C (102°C +113,8°C)*.

Izračunavanje napona pare O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata

Napon pare ΔP_{KP} O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata je izračunat prema korelacionoj jednačini (2) (u atm) na $t=25^\circ\text{C}$ [16]:

$$\Delta P_{KP} = P_{KPr} \cdot P_{KR} \quad (2)$$

gde su:

- P_{KPr} – redukovani napon pare [16] (bezdimenzionalna veličina),
- P_{KR} – izračunat kritični pritisak [16, 17] i iznosi 26,5 atm,

pri čemu je:

$$\log P_{Kr} = \frac{T_K - C}{T_{KR} - T_K} \frac{T - T_{KR}}{T - C} \log P_{KR} \quad (3)$$

gde su:

T_K – temperatura ključanja O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata [5,15] na atmosferskom pritisku koja iznosi 488,95 K (215,8°C),

T_{KR} – izračunata kritična temperatura [16,17] O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata koja iznosi 735,34 K,

T – temperatura na kojoj se računa napon pare koja iznosi 298,15 K (25°C),

C – konstanta [16,17], $C = -18 + 0,19T_K$, K (za $T_K = 488,95$ K, $C = 74,92$ K).

Izračunata vrednost napona pare O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata na 25°C iznosi $\Delta P_{KP} = 55,06$ Pa, što je približno tri puta manja vrednost u odnosu na napon pare somana**.

Određivanje gustine O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata

Utvrđena je gustina O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata merenjem mase (m, g) tačno određene zapremine tečnosti na određenoj temperaturi (V^t , cm^3). Ovako je određeno da gustina O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata na 25°C iznosi $d^{25} = 1,08 \pm 0,05$ g/cm³.

Određivanje rastvorljivosti O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata

Očitavanjem izmerenih aktivnosti holinesteraze i određivanjem koncentracija na osnovu baždarnog dijagrama, dobijene su koncentracije O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata (manje od očekivanih u slučaju potpunog rastvaranja celokupne ubačene količine) u destilovanoj vodi i na osnovu njih određena rastvorljivost.

Prosečne vrednosti rastvorljivosti O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata u destilovanoj vodi su:

– bez centrifugiranja 1,25% ($\sim 0,0125$ g/cm³),

– s centrifugiranjem 1,46% ($\sim 0,0146$ g/cm³),

tako da se za rastvorljivost O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata u destilovanoj vodi može uzeti aritmetička sredina ove dve vrednosti koja iznosi $1,35 \pm 0,07\%$.*

Određivanje uporedne toksičnosti O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata

Na osnovu eksperimentalno utvrđenih subkutanih letalnih doza (LD_{50}) za pacove za dva poznata visokotoksična organofosfata – soman i VX (dostupni su i podaci iz stručne literature [1,2]) i za O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonat, određene su uporedne toksičnosti navedenih jedinjenja (T_r) u odnosu na soman, odnosno uporedne letalne doze primenom jednačine (4):

$$T_r = LD_{50s}/LD_{50n} \quad (4)$$

gde su:

LD_{50s} – subkutana smrtonosna doza somana za pacove, $\mu\text{g}/\text{kg}$,

LD_{50n} – subkutana smrtonosna doza za pacove,

$\mu\text{g}/\text{kg}$

Poznavanjem uporednih toksičnih doza navedenih jedinjenja za pacove i na osnovu poznavanja smrtonosnih toksičnih doza za ljude za soman i VX (postoje literaturni podaci [1,18]), može se proceniti i letalna doza O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata za ljude. Podaci o toksičnosti prikazani su u tabeli 1.

Tabela 1. Uporedne toksikološke karakteristike somana, VX i O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata

Naziv visokotoksične materije	LD_{50n} (pacov, s.c.), mg/kg	Uporedna toksičnost	LD_{50n} (čovjek, p.o.), mg/kg
Soman	0,047±0,0095	1,00	0,50
VX	0,018±0,0035	2,61	0,14
GP	0,030±0,0035	1,56	0,32

Zaključak

Izvršena je sinteza O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata, jednog od predstavnika visokotoksičnih OFJ nervneparalitičkog dejstva G tipa. Struktura sintetizovanog jedinjenja je potvrđena primenom GC/MS i NMR H¹ spektroskopije.

Utvrđena je tačka ključanja na sniženom pritisku i teorijski su određeni tačka ključanja na atmosferskom pritisku i napon pare. Određena je gustina O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata i njeno rastvorljivost.

Preko subkutane toksičnosti utvrđena je i toksikološka osobenost dobijenog jedinjenja.

Na osnovu utvrđenih svojstava, može se smatrati da je O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonat pogodan za primenu u ispitivanjima kao visokotoksična materija, što dalje zahteva istraživanje hemijskih svojstava, pre svega u funkciji nalaženja najefikasnijeg načina hemijske dekontaminacije.

Literatura

- [1] FRANKE,Z., FRANC,P., VARNKE,V. *Khimiya otravlyayushchykh veshchestv*, Khimiya, Moskva, 1973.
- [2] LOŠADKIN,N.A. *Voennaya toksikologiya*. VAHZ, Moskva, 1985.
- [3] GU DU-XIN *On the problem of the intermediate volatility agent IVA*, Inst. of Pharmacol. And Toxicol., Beijing, China, 1986.
- [4] KIRBY,A.J., WARREN,S.G. *The Organic Chemistry of Phosphorus*. Elsevier Publishing Company, Amsterdam/London/New York, 1967.
- [5] CORBRIDGE,D.E.C. *Phosphorus An Outline of its Chemistry, Biochemistry and Technology*, Elsevier Scientific Company, Amsterdam/Oxford/New York, 1980.
- [6] SAUNDERS,B.C. *Some aspects of the chemistry and toxic action of organic compounds containing phosphorus and fluorine*, Cambridge, 1957.
- [7] VAN DEN BERG,G.R. et al. Stereochemical Analysis of the Nerve agents Soman, Sarin, Tabun, and VX by Proton NMR-Spectroscopy with Optically Active Shift Reagents, *Bull. Environ. Contam. Toxicol.*, 1984, vol.33, p.505-514.
- [8] JOHNSON,W.S., POSVIC,H. Introduction of the Angular Methyl Group. III. The Alkoxy- methylene Blocking Group, *J. Am. Chem. Soc.*, 1947, vol.69, p.1361.
- [9] CONIA,J.M.: Alcoylation des cetonnes par l'intermediaire de l'amylate tertiaire de sodium (2° me-moire), *Bull. Soc. chim.*, 1950, vol.17, p.537.
- [10] GAULT,F.G., GERMAIN,J.E., CONIA,J.M. Sur la methylation des cyclopentanones, *Bull. Soc. chim.*, 1957, vol.20, p.1064.
- [11] IRELAND,R.E., MARSHALL,J.A. The n-Butylthiomethylene Blocking Group. *J. Org. Chem.*, 1962, vol.27, p.1615.
- [12] COATES,R.M., SOWERBY,R.L. Site-Selective Geminal Alkylation of Ketones. Reduction-Alkylation of n-Butylthiomethylene Derivatives. *J. Am. Chem. Soc.*, 1971, vol.24, p.1027.

- [13] COATES,R.M., SHAH,S.K., MASON,R.W. Stereoselective Total Synthesis of (±)-Gymnominol via Reduction-Alkylation of α -Cyano Ketones. *J.Am.Chem.Soc.*, 1982, vol.104, p.2198.
- [14] HART,H., CHEN,B., PENG,C.: Synthetic Uses of Alkali Metals on Charcoal and Graphite: Ketone Alkylation. *Tetrahedron Lett.*, 1977, vol.36, p.3121.
- [15] WEAST,R.C., HASS,H.B., NEWTON,R.F. et all. *Handbook of Chemistry and Physics (53.edition)*, The Chemical Rubber Co., Cleveland, 1972, D-144.
- [16] RID,R., ŠERVUD,T. *Svoistva gazov i zhydkostei (opredelenie i korrelyaciya)*. perev.Sokolov B.I. i ost., Khimiya, Leningrad, 1971, p.139.
- [17] STOLJAROV,E.A., ORLOVA,N.G.: *Raschet fiziko-khimicheskikh svoistv zhydkostei – spravochnik*. Khimiya, Leningrad, 1976, p.5-9.
- [18] VOJVODIĆ,V.: *Toksikologija bojnih otrova*. Vojnoizdavački zavod, Institut za vojnomedicinske naučne informacije i dokumentaciju (SSNO, SnU), Beograd, 1981, p.157-171.

Rad primljen: 7.11.2001.god.

* Uzimajući u obzir rastvorljivost somana na 25°C, koja iznosi oko 1,5%, rastvorljivost O-(2,2-dimetilciklopentil)-metilfluorofosfonata je u skladu sa očekivanom vrednošću.

