

# Синтез дейтерированных производных метилфосфоновой кислоты для использования в качестве стандартных соединений в анализе токсичных химикатов

© КОЛЛЕКТИВ АВТОРОВ, 2021

УДК 54.051; 54.052; 54.057; 54.058; 542.057; 543.429-43

<https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-5-3-204-216>

В.А. Яшкир, В.И. Крылов, И.И. Крылов, А.В. Браун,

Д.В. Орешкин, И.В. Рыбальченко, В.Н. Фатеенков

Федеральное государственное бюджетное учреждение  
«27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации,  
105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13

Поступила 05.09.2021 г. Принята к публикации 23.09.2021 г.

Одним из способов обеспечения высокой достоверности обнаружения, идентификации и точности количественного определения токсичных химикатов (ТХ) в экологических и биомедицинских пробах методами газовой и жидкостной хромато-масс-спектрометрии является использование в качестве добавок к анализируемой пробе внутренних стандартов (ВС), которые, в отличие от целевых ТХ, содержат в своем составе стабильные изотопы – такие, как D,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ . При этом предпочтение отдается наиболее доступным стабильным дейтерированным соединениям. Меченные стабильными изотопами ВС широко используются в многочисленных исследованиях по разработке методов анализа различных токсичных химикатов – в частности, алкилфосфоновых кислот. Для оперативного и качественного выполнения задач, возлагаемых на назначенную лабораторию, представляется необходимым иметь физический банк образцов меченых стабильными изотопами ВС, соответствующих тем ТХ, появление которых в анализируемых пробах наиболее вероятно. К ним, прежде всего, относятся стабильные продукты разложения таких фосфорорганических отравляющих веществ (ФОВ), как зарин, зоман, циклозарин, VX, VR, CVX, а именно – метилфосфоновая кислота, ее этиловый, изопропиловый, бутиловый, изобутиловый, пинаколиловый и циклогексиловый эфиры, а также соответствующие симметричные диэфиры. Цель работы – синтез дейтерированных производных метилфосфоновой кислоты для использования в качестве стандартных соединений в анализе токсичных химикатов. Нами синтезированы ВС состава дейтерометилфосфоновой кислоты и ее производных: хлорангидридов О-алкиловых эфиров дейтерометилфосфоновых кислот, кислых О-алкиловых эфиров дейтерометилфосфоновых кислот, О,О-диалкиловых эфиров дейтерометилфосфоновых кислот, а также бис-дейтерометиловый эфир дейтерометилфосфоновой кислоты, аддукты тирозина и трипептида Tyr-Thr-Lys с хлорангидридами О-изопропилового и О-циклогексилового эфиров дейтерометилфосфоновой кислоты. Изучены ЯМР  $^2\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$ , ГХ-МС и ВЭЖХ-МС спектральные характеристики синтезированных веществ.

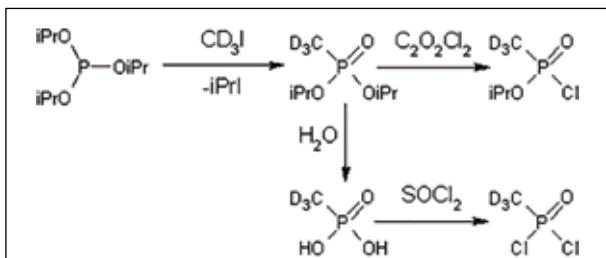
**Ключевые слова:** внутренний стандарт; ВЭЖХ-МС; дейтерий; дейтерометилфосфоновая кислота; изомеризация; изотоп; синтез; спектрометрия; ГХ-МС; триизопропилфосфит; фосфонат; фосфоновая кислота; ЯМР спектроскопия.

**Библиографическое описание:** Яшкир В.А., Крылов В.И., Крылов И.И., Браун А.В., Орешкин Д.В., Рыбальченко И.В., Фатеенков В.Н. Синтез дейтерированных производных метилфосфоновой кислоты для использования в качестве стандартных соединений в анализе токсичных химикатов // Вестник войск РХБ защиты. 2021. Т. 5. № 3. С. 204–216. <https://doi.org/10.35825/2587-5728-2021-1-3-204-216>

Лаборатория химико-аналитического контроля федерального государственного бюджетного учреждения «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации аккредитована Организацией по запрещению химического оружия (ОЗХО) в качестве «назначенной» для проведения анализов экологических и биомедицинских проб, отобранных в местах предполагаемого применения химического оружия. Лаборатория имеет действующее Техническое соглашение с Техническим секретариатом ОЗХО, дающее ей право на проведение анализа таких проб, предоставляемых инспекционными группами ОЗХО, и регламентирующее порядок взаимодействия с ОЗХО при выполнении этих работ.

Одним из способов обеспечения высокой достоверности обнаружения, идентификации и точности количественного определения токсичных химикатов (TX) в экологических и биомедицинских пробах методами газовой и жидкостной хромато-масс-спектрометрии является использование в качестве добавок к анализируемой пробе внутренних стандартов (ВС), которые, в отличие от целевых TX, содержат в своем составе стабильные изотопы – такие, как D,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ . При этом предпочтение отдается наиболее доступным стабильным дейтерированным соединениям [1]. Регистрация в масс-спектре пиков фрагментов со значениями  $m/z$ , превышающими значения  $m/z$  фрагментов целевого TX на величину, соответствующую суммарной массе изотопов D, включенных в структуру молекулы ВС, гарантирует достоверность идентификации TX, а отношение значений откликов TX и ВС, внесенного в анализируемую пробу – точность количественного определения.

Меченные стабильными изотопами ВС широко используются в многочисленных исследованиях по разработке методов анализа различных токсичных химикатов, в частности, алкилфосфоновых кислот [2–4], фосфорогранических отравляющих веществ (ФОВ) [5–10] и иприта [11–14].



**Рисунок 1 – Схема получения дихлорангидрида дейтерометилфосфоновой кислоты и хлорангидрида изопропилового эфира дейтерометилфосфоновой кислоты**

Для оперативного и качественного выполнения задач, возлагаемых на «назначенную» лабораторию, представляется необходимым иметь физический банк образцов меченых стабильными изотопами ВС, соответствующих тем TX, появление которых в анализируемых пробах наиболее вероятно. К ним, прежде всего, относятся стабильные продукты разложения таких ФОВ, как зарин, зоман, циклозарин, VX, VR, CVX, а именно – метилфосфоновая кислота, ее этиловый, изопропиловый, бутиловый, изобутиловый, пинаколиловый и циклогексиловый эфиры, а также соответствующие симметричные диэфиры.

Цель работы – синтез дейтерированных производных метилфосфоновой кислоты для использования в качестве стандартных соединений в анализе токсичных химикатов.

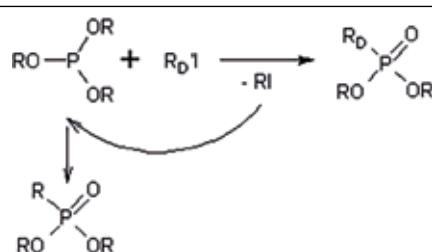
Задачами настоящей работы явились разработка методик синтеза меченых стабильными изотопами внутренних стандартов продуктов разложения ФОВ, получение их необходимых количеств для формирования физического банка образцов, а также изучение масс-спектрометрических характеристик синтезированных соединений.

Так как продукты разложения ФОВ представляют собой алкилфосфоновые кислоты и их производные, необходимо рассмотреть возможные методы синтеза их дейтерированных аналогов, в алкильной части которых все атомы водорода будут заменены на дейтерий.

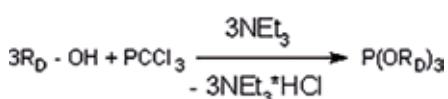
В литературе имеется только один пример получения дейтерометилфосфоновой кислоты, ее дихлорангидрида, дизопропилового эфира и хлорангидрида изопропилового эфира [15]. Схемы реакций приведены на рисунке 1.

Высокая селективность данной реакции объясняется реакционной способностью дейтерометилиода.

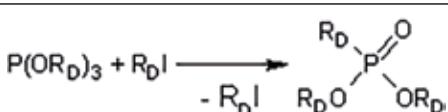
Для получения производных дейтероэтил-, дейтеропропил- и дейтероизопропилфосфоновых кислот данный метод не подходит, так как в результате реакции будут образовываться, помимо искомых соединений, произ-



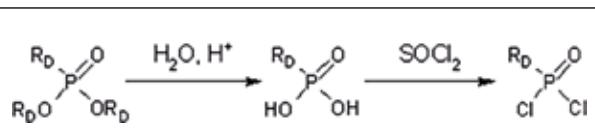
**Рисунок 2 – Схема взаимодействия триалкилфосфитов с алкилгалогенидами**



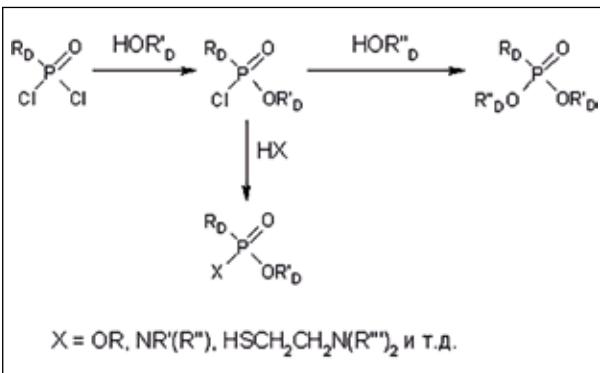
**Рисунок 3 – Схема получения трис-дейтероалкилфосфитов из дейтероспиртов**



**Рисунок 4 – Изомеризация трис-дейтероалкилфосфитов дейтероалкилгалогенидами**



**Рисунок 5 – Схема синтеза дихлорангидридов дейтероалкилфосфоновых кислот из бис-дейтероалкиловых эфиров дейтероалкилфосфоновых кислот**



**Рисунок 6 – Схема получения различных производных дейтероалкилфосфоновой кислоты на основе дейтероспиртов**

водные реакций выделяющегося иодалканы с триалкилфосфитом, что показано на рисунке 2. Разделить полученные продукты практически невозможно.

Единственный выход в этой ситуации – использование в качестве исходных дейтеротриалкилфосфитов, которые могут быть получены из соответствующих дейтерированных спиртов и треххлористого фосфора [16–22] по схеме, показанной на рисунке 3.

При взаимодействии полученных фосфитов с дейтероидалканами, имеющими тот же радикал, что и в триалкилфосфите, будут образовываться дейтерированные диэфиры дейтероалкилфосфоновых кислот, причем дейтероидалкан в реакции может быть использован

в катализических количествах, поскольку выделяющийся в ходе реакции дейтероидалкан будет аналогичен исходному. Реакция протекает по схеме, показанной на рисунке 4.

Полученные в результате вышеуказанной реакции вещества могут сами использоваться как стандартные соединения при идентификации, а также являются исходными для получения разнообразных производных.

Для получения разнообразных производных дейтероалкилфосфоновых кислот, в качестве исходных продуктов необходимо иметь дихлорангидриды, получаемые по схеме, показанной на рисунке 5. Получение их из диэфиров, описанных выше, не представляет сложности и осуществляется по схеме, приведенной на рисунке 5.

Дейтероалкилфосфоновые кислоты сами по себе тоже являются важными стандартами при идентификации и количественном определении алкилфосфоновых кислот.

Кроме того, дихлорангидриды – исходные вещества для получения дифторангидридов, монохлорангидридов эфиров, диэфиров с одинаковыми или различными заместителями, диамидов и амидоэфиров дейтероалкилфосфоновых кислот.

Поскольку дейтерированные спирты не отличаются по своим свойствам от обычных, возможно получение разнообразных производных с атомами дейтерия не только во фрагменте C-P связи, но и в О-алкильных фрагментах, что показано на рисунке 6.

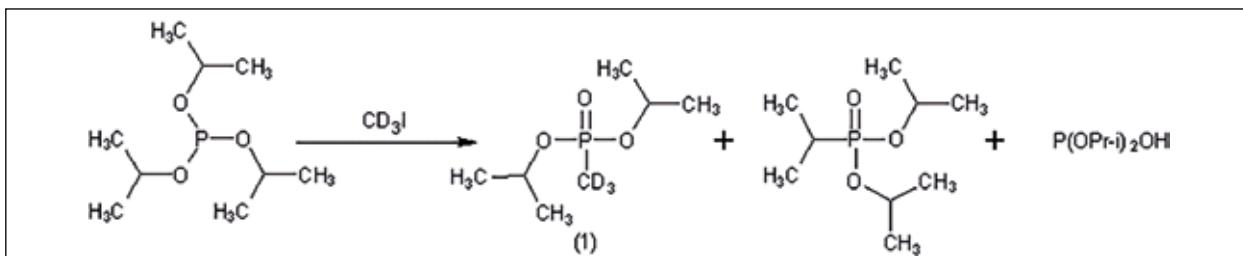
Таким образом, для получения разнообразных производных ФОВ с дейтерированными фрагментами, ключевым является получение дихлорангидридов дейтероалкилфосфоновых кислот. Для этого необходимо иметь набор дейтерированных спиртов и дейтероалкилиодидов.

Ввиду того, что стоимость дейтерированных спиртов и дейтероалкилиодидов (кроме дейтерометанола и дейтероидметана) очень высока, а все известные ФОВ являются производными метилфосфоновой кислоты, мы решили ограничиться синтезом дейтерометилфосфоновой кислоты и ее производных.

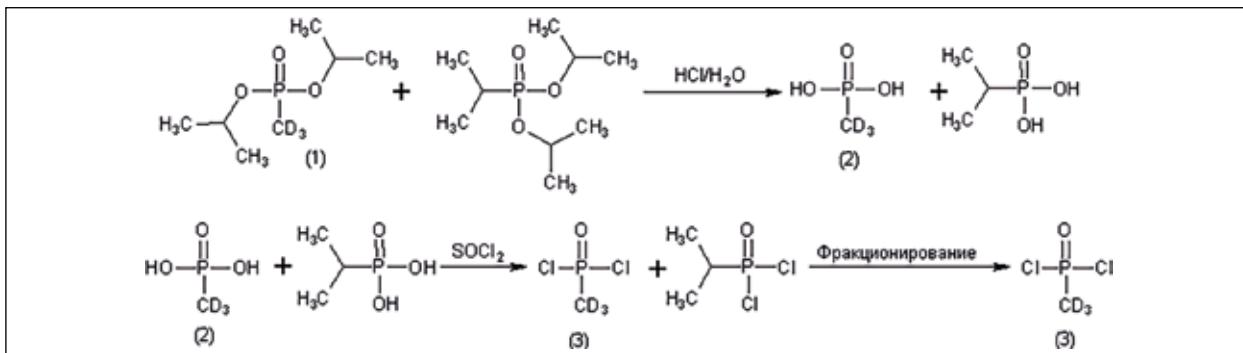
#### Обсуждение результатов

Синтез дейтерометилфосфоновой кислоты был осуществлен двумя методами: на основе триизопропилфосфита (описан в литературе [15]) и на основе трис-дейтерометилфосфита.

По первому способу, существенным недостатком является выделение чистой кислоты, поскольку наличие кислого фосфита в триизопропилфосфите, даже после кипячения с натрием, составляет около 6 %, а после реакции с дейтероидметаном, кроме фосфита, в реакционной смеси, по данным ЯМР  $^{31}P$ , присутствуют



**Рисунок 7 – Схема изомеризации триизопропилфосфита дейтериоидометаном**



**Рисунок 8 – Схема синтеза дихлорангидрида дейтерометилфосфоновой кислоты**

еще три продукта, один из которых является дизопропиловым эфиром изопропилфосфоновой кислоты. Сумма примесей составляет около 15 % (рисунок 7).

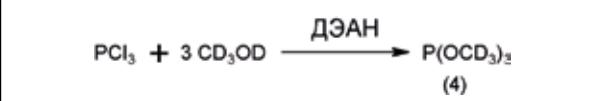
Ключевой стадией очистки является получение дихлорангидрида дейтерометилфосфоновой кислоты перегонкой реакционной смеси после обработки продуктов кислотного гидролиза избытком тионилхлорида (рисунок 8).

Трис-дейтерометилfosфит был получен из треххлористого фосфора реакцией с дейтерометанолом в присутствии третичных аминов в качестве акцепторов хлористого водорода. В качестве третичных аминов использовали триэтиламин (ТЭА) и N,N-диэтиланилин (ДЭАН). Более высокая чистота продукта и более высокие выходы были получены с ДЭАН (рисунок 9).

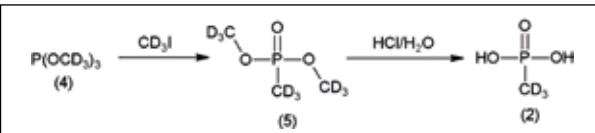
Изомеризация трис-дейтерометилфосфита в бис-дейтерометиловый эфир дейтерометилметилфосфоновой кислоты под действием дейтерометилиодида проходит количественно. Чистота продукта после перегонки составила 99%. Гидролиз диэфира в кислой среде количественно приводит к получению дейтерометилфосфоновой кислоты высокой степени чистоты (рисунок 10).

Сравнивая два способа получения дейтерометилфосфоновой кислоты по экономическим показателям, можно сделать вывод, что первый способ более выгоден.

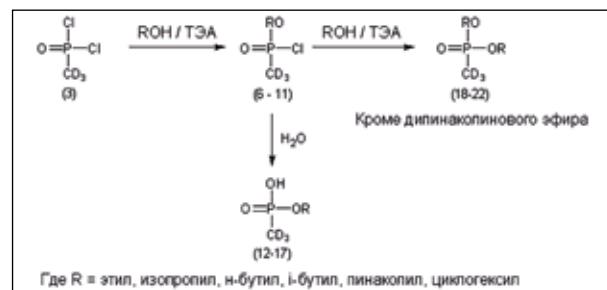
Синтез хлорангидридов алкиловых эфиров дейтерометилфосфоновой кислоты, кислых эфиров и диэфиров (рисунок 11) был осуществлен по обычным методикам [15, 23, 25].



**Рисунок 9 – Схема синтеза  
трис-дейтерометилфосфита**

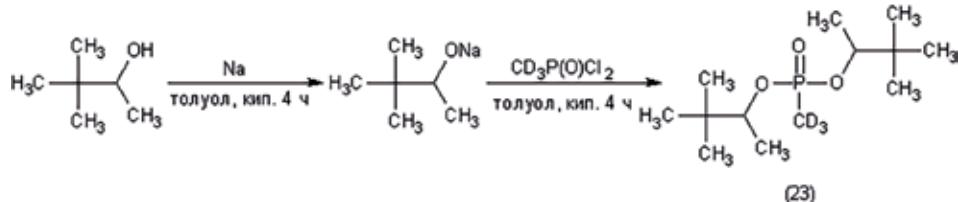
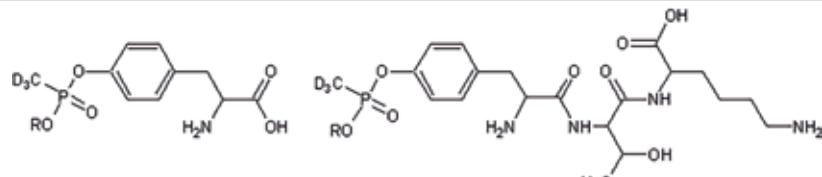


**Рисунок 10 – Схема синтеза дейтерометилфосфоновой кислоты из бис-дейтерометилового эфира дейтерометилфосфоновой кислоты**



**Рисунок 11 – Схема синтеза хлорангидридов  
эфиров, кислых эфиров и диэфиров дейтерометилфосфоновой кислоты**

Дипинаколиновый эфир дейтерометилфосфоновой кислоты был получен путем взаимодействия дихлорангидрида ДМФК с пинаколятом натрия в кипящем толуоле (рисунок 12).

**Рисунок 12 – Схема синтеза дипинаколинового эфира дейтерометилfosфоновой кислоты****Рисунок 13 – Фосфорилированные дейтероалкилфосфоновыми кислотами тирозин и трипептид Tyr-Thr-Lys**

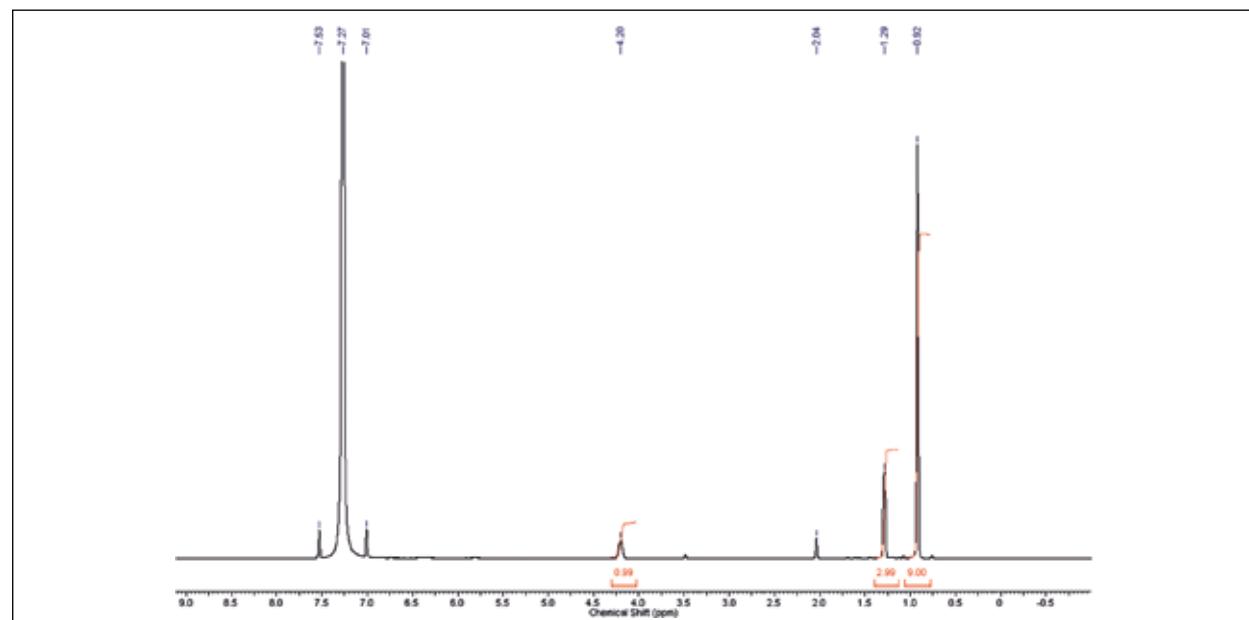
Также на основе хлорангидридов изопропилового и циклогексилового эфиров ДМФК были получены аддукты с тирозином и трипептидом Tyr-Thr-Lys (рисунок 13) [25, 26]. Данные продукты были использованы в 2018 и 2020 годах как стандарты при проведении биомедицинских тестов под эгидой ОЗХО.

По своим физико-химическим свойствам полученные производные дейтерометилфосфоновой кислоты не отличаются от производных метилфосфоновой кислоты. В ЯМР <sup>1</sup>H спектрах отсутствует сигнал метильной группы при атоме фосфора, он проявляется в

спектрах <sup>2</sup>H в той же области спектра. КССВ Р-<sup>2</sup>H ( $CD_3$ ) составляет около 2,6 Гц. Химические сдвиги атомов фосфора практически не отличаются от недейтерированных аналогов. Данные ЯМР <sup>2</sup>H и <sup>31</sup>P приведены в таблице 1, а в качестве примера приведены ЯМР <sup>1</sup>H, <sup>2</sup>H и <sup>31</sup>P спектры О-пинаколиддейтерометилфосфоната на рисунках 14–16.

#### Экспериментальная часть

Регистрацию <sup>1</sup>H, <sup>2</sup>H, <sup>31</sup>P ЯМР спектров проводили на спектрометре QONE AS400 при температуре 298 К. Частота регистрации спектров <sup>1</sup>H – 399,834 МГц, <sup>2</sup>H – 61,377 МГц

**Рисунок 14 – ЯМР <sup>1</sup>H спектр О-пинаколиддейтерометилфосфоновой кислоты в  $CHCl_3$**

и  $^{31}\text{P}$  – 161,856 МГц. Шкалу для протонных и дейтериевых экспериментов градуировали по отношению к сигналу соответствующего дейтерорастворителя, для экспериментов  $^{31}\text{P}$  – по отношению к внутреннему стандарту (фосфорная кислота). Регистрацию ГХ-МС спектров проводили на газовом хромато-масс-спектрометре высокого разрешения Agilent 7200 Q-TOF, регистрацию ВЭЖХ-МС спектров проводили на аналитической станции Agilent Infinity 1260/Thermo Scientific Orbitrap Fusion Lumos в режиме электрораспылительной ионизации. Для синтеза дей-

терометилfosфоновой кислоты использовали триизопропилfosфит, треххlorистый фосфор, дейтерометанол и дейтериодметан производства «Sigma-Aldrich».

#### *Дизопропиловый эфир дейтерометилфосфоновой кислоты (1)*

К 10,4 г (0,05 моль) триизопропилфосфита добавляли 7,25 г (0,05 моль) дейтериодметана и нагревали на кипящей водяной бане в течение 1 ч. Реакционную массу перегоняли, собирая фракцию с температурой кипения 50–51 °C при 1 мм рт.ст., получали 8,4 г (выход 92 % от теоретического) дизопропилового эфира дейтеро-

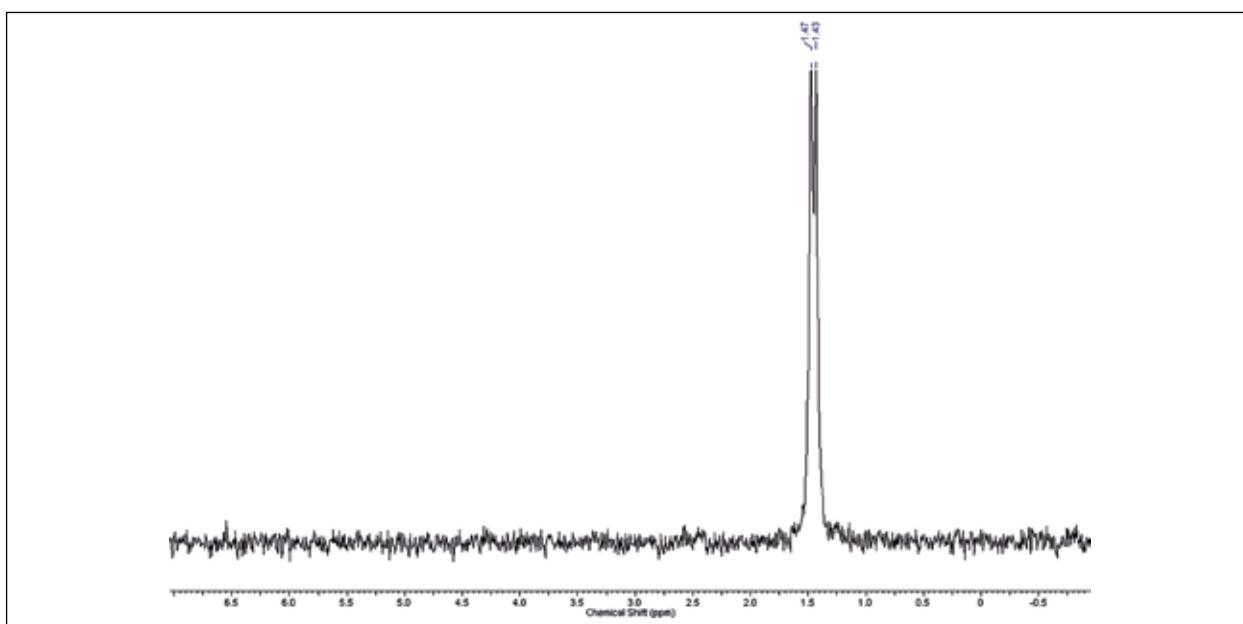


Рисунок 15 – ЯМР  $^2\text{H}$  спектр О-пинаколилдейтерометилфосфоновой кислоты в  $\text{CHCl}_3$

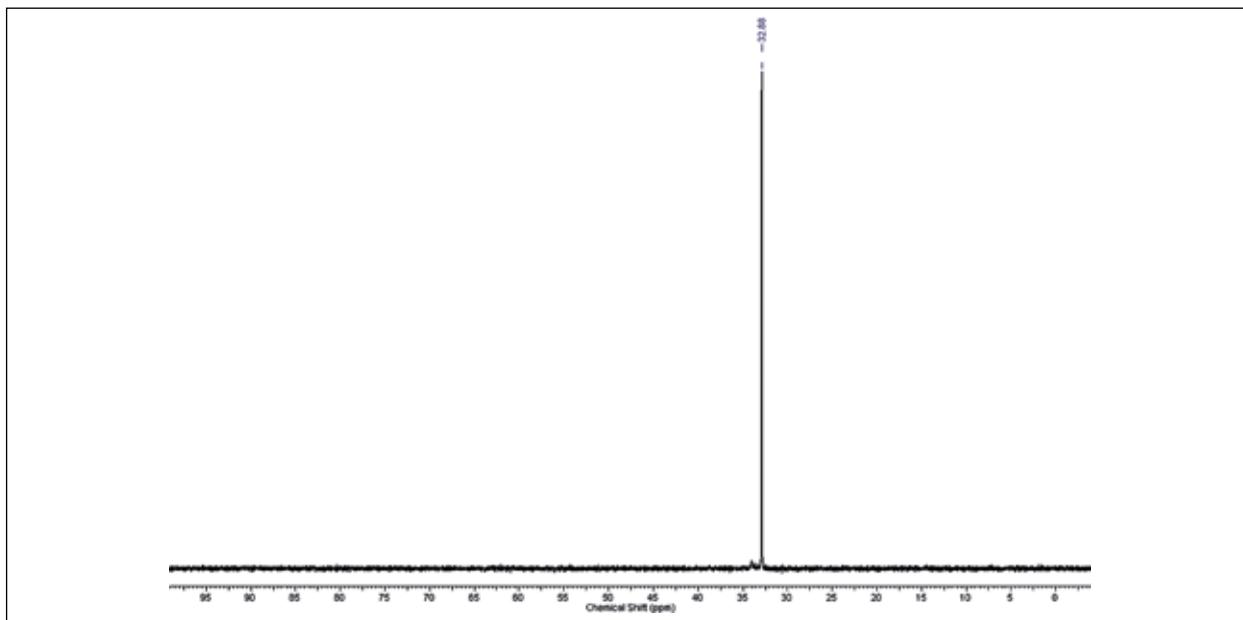


Рисунок 16 – ЯМР  $^{31}\text{P}$  спектр О-пинаколилдейтерометилфосфоновой кислоты в  $\text{CHCl}_3$

метилфосфоновой кислоты.  $^2\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ , м.д.;  $J$ , Гц: 1,05 д,  $\text{CD}_3\text{P}$ ,  $J=2,6$  Гц;  $^{31}\text{P}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ )  $\delta$ , м.д.: 27,92, с.

#### *Дейтерометилфосфоновая кислота (2)*

8 г (0,043 моль) дизопропилового эфира дейтерометилфосфоновой кислоты (1) и 12 мл концентрированной соляной кислоты помещали в автоклав из нержавеющей стали, футерованный тефлоном, и нагревали при  $145\text{ }^\circ\text{C}$  в течение 1 ч. После охлаждения реакционную массу упаривали досуха в вакууме водоструйного насоса. Получали 4,0 г (выход 93 % от теоретического) дейтерометилфосфоновой кислоты (d3-МФК).  $^2\text{H}$  ЯМР ( $\text{D}_2\text{O}$ , рН=1),  $\delta$ , м.д.;  $J$ ,

Гц: 1,21 д,  $\text{CD}_3\text{P}$ ,  $J=2,6$  Гц;  $^{31}\text{P}$  ЯМР ( $\text{D}_2\text{O}$  рН=1)  $\delta$ , м.д.: 30,1, с.

#### *Дихлорангидрид дейтерометилфосфоновой кислоты (3)*

3,8 г (0,038 моль) дейтерометилфосфоновой кислоты (2) нагревали при кипении с 10 мл хлористого тионила в течение 1 часа до прекращения выделения хлористого водорода. Избыток хлористого тионила удаляли в вакууме водоструйного насоса. Остаток перегоняли в вакууме, собирая фракцию с температурой кипения  $85\text{--}90\text{ }^\circ\text{C}$  при 20 мм рт.ст. Получали 4,2 г, 80 % от теоретического, дихлорангидрида метилфосфоновой кислоты.  $^2\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ),  $\delta$ ,

**Таблица 1 – Данные  $^2\text{H}$  и  $^{31}\text{P}$  ЯМР спектроскопии производных дейтерометилфосфоновой кислоты**

№ соединения	Название вещества (сокращение)	Дейтеро-растворитель	Спектр $^2\text{H}$ , δ м.д., J Гц	Спектр $^{31}\text{P}$ , δ м.д.
6	О-этилдейтерометилхлорфосфонат (d3-ХАЭМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,96, д, $\text{CD}_3\text{P}$ , $J=2,6$ Гц	40,06, с
7	О-изопропилдейтерометилхлорфосфонат (d3-ХАИПМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,89, д, $\text{CD}_3\text{P}$ , $J=2,6$ Гц	38,45, с
8	О-н-бутилдейтерометилхлорфосфонат (d3-ХАБМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,91, д, $\text{CD}_3\text{P}$ , $J=2,6$ Гц	40,15, с
9	О-и-бутилдейтерометилхлорфосфонат (d3-ХАИБМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,90, д, $\text{CD}_3\text{P}$ , $J=2,6$ Гц	40,17, с
10	О-циклогексилдейтерометилхлорфосфонат (d3-ХАЦГМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,94, д, $\text{CD}_3\text{P}$ , $J=2,6$ Гц	41,06, с
11	О-пинаколилдейтерометилхлорфосфонат (d3-ХАПМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,93, д, $\text{CD}_3\text{P}$ , $J=2,6$ Гц	39,6 с; 39,0, с
12	О-этилдейтерометилфосфоновая к-та (d3-ЭМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,39, д, $J=2,6$ Гц	31,32 с
13	О-изопропилдейтерометилфосфоновая к-та (d3-ИПМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,40, д, $J=2,6$ Гц	32,07 с
14	О-н-бутилдейтерометилфосфоновая к-та (d3-БМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,38, д, $J=2,6$ Гц	32,48 с
15	О-и-бутилдейтерометилфосфоновая к-та (d3-ИБМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,43, д, $J=2,6$ Гц	31,96 с
16	О-циклогексилдейтерометилфосфоновая к-та (d3-ЦГМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,46, д, $J=2,6$ Гц	32,93 с
17	О-пинаколилдейтерометилфосфоновая к-та (d3-ПМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,45, д, $J=2,6$ Гц	32,87 с
18	О,О-диэтилдейтерометилфосфонат (d3-ДЭМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,42, д, $J=2,6$ Гц	29,9 с
19	О,О-диизопропилдейтерометилфосфонат (d3-ДИПМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,44, д, $J=2,6$ Гц	30,7 с
20	О,О-ди-н-бутилдейтерометилфосфонат (d3-ДБМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,42, д, $J=2,6$ Гц	30,60 с
21	О,О-ди-и-бутилдейтерометилфосфонат (d3-ДИБМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,46, д, $J=2,6$ Гц	30,47 с
22	О,О-дициклогексилдейтерометилфосфонат (d3-ДЦГМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,50, д, $J=2,6$ Гц	31,20
23	О,О-дипинаколилдейтерометилфосфонат (d3-ДПМФК)	$\text{CDCl}_3$	1,47 д, $J=2,6$ Гц; 1,46 д, $J=2,6$ Гц; 1,45 д, $J=2,6$ Гц	29,32 с; 30,14 с; 28,35 с

м.д.; J, Гц: 2,45 д,  $\text{CD}_3\text{P}$ , J=2,6 Гц;  $^{31}\text{P}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ) δ, м.д.: 44,2, с.

#### *Трис-дейтерометилфосфит (4)*

В четырехгорлую круглодонную колбу емкостью 500 мл, снабженную механической мешалкой, термометром, барботером для инертного газа и капельной воронкой с противодавлением с хлоркальциевой трубкой, помещали 10,8 г (0,3 моль) дейтерометанола, 44,7 г (0,3 моль) ДЭАН и 200 мл свежеперегнанного (над натрием) диэтилового эфира. Смесь охлаждали на ледо-солевой бане до минус 10 °C ипускали ток аргона. Через 10–15 мин, когда вся установка была продута аргоном, по каплям добавляли смесь 13,75 г (0,1 моль) треххлористого фосфора в 100 мл свежеперегнанного диэтилового эфира с такой скоростью, чтобы температура реакционной массы не превышала 5 °C. После прибавления раствора треххлористого фосфора (около 1,5 ч) капельную воронку меняли на обратный холодильник и нагревали на водяной бане при температуре кипения растворителя в течение 2 часов. После нагрева убирали, реакционную массу охлаждали до комнатной температуры и фильтровали от гидрохлорида ДЭАН на стеклянном фильтре под вакуумом водоструйного насоса. Осадок промывали 200 мл диэтилового эфира, фильтрат переносили в двугорлую колбу, снабженную барботером для инертного газа, насадкой Вюрца с термометром и нисходящим холодильником, отгоняли диэтиловый эфир, охлаждали и переносили в перегонную колбу. Перегоняли

при атмосферном давлении, собирая фракцию 109–113 °C. Полученный трис-дейтеротриметилфосфит еще раз перегоняли в вакууме при 50 мм рт.ст., собирая фракцию с температурой кипения 38–40 °C. Выход 4,2 г, 32 % от теоретического.  $^2\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ), δ, м.д.; J, Гц: 3,43 д,  $\text{CD}_3\text{OP}$ , J=1,6 Гц;  $^{31}\text{P}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ) δ, м.д.: 141,08, с.

#### *Бис-дейтерометиловый эфир дейтерометилфосфоновой кислоты (5)*

Бис-дейтерометиловый эфир дейтерометилфосфоновой кислоты был получен аналогично (1) путем нагревания трис-дейтерометилфосфита (4,2 г, 0,032 моль) с дейтероидметаном (4,57 г, 0,032 моль). Продукт перегоняли при 8 мм рт.ст., собирая фракцию с температурой кипения 61–62 °C. Выход дейтеродиметилового эфира дейтерометилфосфоновой кислоты 3,92 г (92 % от теоретического).  $^2\text{H}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ), δ, м.д.; J, Гц: 3,42, д,  $\text{CD}_3\text{O}$ , J=1,6 Гц; 1,17, д,  $\text{CD}_3\text{P}$ , J=2,6 Гц;  $^{31}\text{P}$  ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ) δ, м.д.: 33,08, с.

Синтезы О-алкилдейтерометилхлорфосфонатов 6–11, кислых эфиров дейтерометилфосфоновой кислоты 12–17 и dialкилдейтерометилфосфонатов 18–23 были осуществлены по методикам, показанным в работах [15, 24, 25]. Спектральные характеристики полученных веществ приведены в таблице 1. Данные ГХ-МС и ВЭЖХ-МС анализа синтезированных соединений приведены в таблицах 2 и 3.

Таким образом, в результате проведенных исследований разработаны методики синтеза меченых стабильными изотопами внутренних стандартов продуктов разложения ФОВ, полу-

Таблица 2 – Данные ГХ-МС спектрометрии производных дейтерометилфосфоновой кислоты

Соединение	Элементный состав	$m/z_{\text{теор}}$	$m/z_{\text{набл}}$	$\Delta m/z, \text{млн}^{-1}$	Интенсивность, %
d3-ХАЭМФК	CH2D3ClO2P	117,9904	117,9908	-0,4	100
	CD3ClOP	99,9798	99,9795	-0,3	40
	CHD3O2P	82,0137	82,0132	-0,5	65
d3-ДЭМФК	C3H7D3O3P	128,0556	128,0552	-0,4	70
	CD3O3P	97,0008	97,0009	-0,1	90
	CHD3O2P	82,0137	82,0135	-0,2	100
d3-ХАИПМФК	CH2D3ClO2P	117,9904	117,9901	-0,3	100
	C3H4D3ClO2P	144,0060	144,0062	-0,2	30
	CHD3O2P	82,0137	82,0135	-0,2	65
d3-ДИПМФК	C3H5D3O3P	126,0399	126,0396	-0,3	60
	CD3O3P	97,0008	97,0008	-0,1	90
	CHD3O2P	82,0137	82,0135	-0,2	65
d3-ХАИБМФК	CH2D3ClO2P	117,9904	117,9906	-0,2	100
	C2H3D3ClO2P	130,9982	130,9987	-0,5	25
	CHD3ClOP	100,9877	100,9875	-0,2	60

## Продолжение таблицы 2

Соединение	Элементный состав	$m/z_{\text{теор}}$	$m/z_{\text{набл}}$	$\Delta m/z, \text{млн}^{-1}$	Интенсивность, %
d3-ДИБМФК	CD3O3P	97,0008	97,0006	-0,2	100
	C2H4D3O3P	113,0321	113,0320	-0,1	10
	C4H7D3O3P	140,0556	140,0556	-0,04	8
	C5H11D3O3P	156,0689	156,0685	-0,4	6
d3-ХАБМФК	C3H4D3ClO2P	144,0060	144,0065	-0,5	3
	CH2D3ClO2P	117,9904	117,9905	-0,1	100
	C5H9D3O2P	138,0763	138,0766	-0,3	10
d3-ДБМФК	CD3O3P	97,0008	97,0004	-0,4	100
	C3H5D3O3P	126,0399	126,0395	-0,4	8
	C5H11D3O3P	156,0689	156,0685	-0,4	10
d3-ХАПМФК	C3H5D3ClO2P	145,0139	145,0134	-0,5	100
	CH2D3ClO2P	117,9904	117,9907	-0,3	80
	CHD3ClOP	100,9877	100,9874	-0,3	90
d3-ДПМФК	C3H5D3O3P	126,0399	126,0394	-0,5	95
	CD3O3P	97,0008	97,0004	-0,4	100
	C6H11D3O3P	168,0869	168,0865	-0,4	8
d3-ХАЦГМФК	CH2D3ClO2P	117,9904	117,9908	-0,4	10
	CHD3O2P	82,0137	82,0135	-0,2	10
	CD3ClOP	99,9798	99,9795	-0,3	6
	C5H11D3O3P	156,0689	156,0688	-0,1	1
d3-ДЦГМФК	CD3O3P	97,0008	97,0005	-0,3	100
	C7H13D3O3P	182,1025	182,1027	-0,2	1
	CHD3O2P	82,0137	82,0135	-0,2	10

Таблица 3 – Данные ВЭЖХ-МС спектрометрии производныхдейтерометилфосфоновой кислоты

Соединение	Элементный состав	$m/z_{\text{теор}}$	$m/z_{\text{набл}}$	$\Delta m/z, \text{млн}^{-1}$	Интенсивность, %
d3-ЭМФК	$C_3H_5^2H_3O_3P$	126,0405	126,0404	-0,73	3,1
	$CH^2H_3O_3P$	98,0092	98,0090	-1,27	100
	$O_3P$	78,9591	78,9589	-2,15	14,0
	$C^2H_2O_2P$	78,9923	78,9922	-2,06	8,0
d3-ИПМФК	$C_4H_7^2H_3O_3P$	140,0561	140,0560	-0,90	4,1
	$CH^2H_3O_3P$	98,0092	98,0090	-1,50	100
	$O_3P$	78,9591	78,9589	-2,01	9,9
	$C^2H_2O_2P$	78,9923	78,9922	-1,86	3,0
d3-БМФК	$C_5H_9^2H_3O_3P$	154,0718	154,0715	-1,83	0,96
	$CH^2H_3O_3P$	98,0092	98,0090	-1,85	100
	$O_3P$	78,9591	78,9590	-0,10	10,8
	$C^2H_2O_2P$	78,9923	78,9923	-0,42	8,4

## Продолжение таблицы 3

Соединение	Элементный состав	$m/z_{\text{теор}}$	$m/z_{\text{набл}}$	$\Delta m/z, \text{млн}^{-1}$	Интенсивность, %
d3-ИБМФК	$C_5H_9^2H_3O_3P$	154,0718	154,0716	-0,84	30,0
	$CH^2H_3O_3P$	98,0092	98,0091	-1,19	100
	$O_3P$	78,9591	78,9590	-0,94	6,0
	$C^2H_2O_2P$	78,9923	78,9923	-1,23	21,4
d3-ЦГМФК	$C_7H_{11}^2H_3O_3P$	180,0874	180,0873	-0,86	25,7
	$CH^2H_3O_3P$	98,0092	98,0090	-2,32	100
	$O_3P$	78,9591	78,9590	-0,78	3,2
	$C^2H_2O_2P$	78,9923	78,9923	-0,90	2,3
d3-ПМФК	$C_7H_{13}^2H_3O_3P$	182,1031	182,1033	0,79	7,1
	$CH^2H_3O_3P$	98,0092	98,0090	-2,13	100
	$O_3P$	78,9591	78,9590	-1,04	3,4
	$C^2H_2O_2P$	78,9923	78,9923	-1,02	1,9
d3-МФК	$CH^2H_3O_3P$	98,0092	98,0090	-2,21	3,1
	$O_3P$	78,9591	78,9589	-2,39	100

чены их необходимые количества для формирования физического банка дейтерированных внутренних стандартов, включающего 20 образцов. Все полученные соединения охарактеризованы с использованием спектроскопии ЯМР и масс-спектрометрии высокого разрешения.

Полученные результаты планируется использовать при выполнении задач аккреди-

тованной ОЗХО лабораторией 27 НЦ МО РФ в рамках привлечения ее к мероприятиям по контролю за выполнением положений Конвенции о запрещении разработки, производства, накопления и применения химического оружия и его уничтожении, а также при участии в официальных профессиональных тестах ОЗХО.

**Вклад авторов/Autor Contributions**

Все авторы внесли свой вклад в концепцию рукописи, участвовали в обсуждении и написании этой рукописи, одобрили окончательную версию. Все авторы прочитали и согласились с опубликованной версией рукописи / All authors contributed to the conception of the manuscript, the discussion, and writing of this manuscript, approved the final version. All authors have read and agreed to the published version of the manuscript.

**Информация о конфликте интересов**

Авторы заявляют, что исследования проводились при отсутствии любых коммерческих или финансовых отношений, которые могли бы быть истолкованы как потенциальный конфликт интересов.

**Сведения о рецензировании**

Статья прошла открытое рецензирование двумя рецензентами, специалистами в данной области. Рецензии находятся в редакции журнала и в РИНЦе.

**Список источников / References**

- Лебедев А.Т. Масс-спектрометрия в органической химии // Техносфера. М. 2015. С. 509–511. Lebedev A.T. Mass spectrometry in organic chemistry // Tehnosfera, Moscow. 2015. P. 509–511 (in Russian).
- Nyholm J.R., Gustafsson T. Structural determination of nerve agent markers using gas chromatography massspectrometry after derivatization with 3-pyridylmethane // Mass Spectrom. 2013. V. 48. P. 813–822.
- Subramaniam R., Östlin A. Direct derivatization and gas chromatography–tandem mass spectrometry identification of nerve agent biomarkers in urine samples // Journal of Chromatography B. 2013. V. 928. P. 98–105.
- Połeć I., Kiełczewska A. Alkyl methylphosphonic acids, the degradation products of organophosphorous CWA — preparation and direct quantitative GC-FID analysis // Central European Journal of Chemistry. 2010.

- V. 8. P. 1251–1265. <https://doi.org/10.2478/s11532-010-0102-3>
5. Polhuijs M., Langenberg P.J. New Method for Retrospective Detection of Exposure to Organophosphorus Anticholinesterases: Application to Alleged Sarin Victims of Japanese Terrorists // Toxicology and Applied Pharmacology. 1997. V. 146. P. 156–161.
  6. Van der Meer J.A., Trap H.C. Comprehensive gas chromatography with Time of Flight MS and large volume introduction for the detection of fluoride-induced regenerated nerve agent in biological samples // J. Chromatography B. 2010. V. 878. P. 1320–1325.
  7. Knaack J.S., Zhou Y. High-Throughput Immunomagnetic Scavenging Technique for Quantitative Analysis of Live VX Nerve Agent in Water, Hamburger, and Soil Matrixes // Anal. Chem. 2012. V. 84. P. 10052–10057.
  8. Fidder A., Hulst A. G. Retrospective detection of exposure to organophosphorus anti-cholinesterases: mass spectrometric analysis of phosphorylated human butyrylcholinesterase // Chem. Res. Toxicol. 2002. V. 15. P. 582–590.
  9. Capoun T. Internal standards for quantitative analysis of chemical warfare agents by the GC/MS method: nerve agents // Journal of Analytical Methods in Chemistry. 2020. V. 2020. P. 1–11. <https://doi.org/10.1155/2020/8857210>
  10. Subramaniam R., Åstota C. Determination of S-2-(N,N-diisopropylaminoethyl)- and S-2-(N,N-diethylaminoethyl) methylphosphonothiolate, nerve agent markers, in water samples using strong anion-exchange disk extraction, in vial trimethylsilylation, and gas chromatography–mass spectrometry analysis // Journal of Chromatography A. 2012. V. 1229. P. 86–94. <https://doi.org/10.1016/j.chroma.2012.01.068>
  11. McGuire M.J., Byers C.E. A rapid and sensitive technique for assessing exposure VX via GC-MS-MS analysis // Journal of Analytical Toxicology. 2008. V. 32. № 1. P. 63–67. <https://doi.org/10.1093/jat/32.1.63>
  12. Halmea M., Karjalainenb M. Development and validation of efficient stable isotope dilution LC-HESI-MS/MS method for the verification of  $\beta$ -lyase metabolites in human urine after sulfur mustard exposure // Journal of Chromatography B. 2011. V. 879. № 13–14. P. 908–914. <https://doi.org/10.1016/j.jchromb.2011.02.043>
  13. Lawrence R.J., Smith J.R. Improvements in the methodology of monitoring sulfur mustard exposure by gas chromatography–mass spectrometry analysis of cleaved and derivatized blood protein adducts // Journal of Analytical Toxicology. 2008. V. 32. № 1. P. 31–36. <https://doi.org/10.1093/jat/32.1.31>
  14. Hayes T.L., Kenny D.V. Feasibility of direct analysis of saliva and urine for phosphonic acids and thiodiglycol-related species associated with exposure to chemical warfare agents using LC-MS/MS // J. Med. Chem. Def. 2004. V. 2.
  15. Bennet A.J., Kovach I.M., Bibbs J.A. Catalytic recruitment by phosphoryl derivatives as inactivators of acetylcholinesterase and substrates for imidazole-catalyzed hydrolysis: .beta.-deuterium isotope effects // J. Am. Chem. Soc. 1989. V. 111. P. 6424.
  16. Gilyarov V.A., Shcherbina T.M., Laretina A.P., Kabachnik M.I. GC-MS study of the imide-amide rearrangement // Bull. Russ. Acad. Sci. Div. Chem. Sci. (Engl. Transl.) 1992. V. 41. P. 1931–1934.
  17. LiXinhai, Yuan Ling, Wang Qinggang et al. Solid-phase synthesis for novel nerve agent adducted nonapeptides as biomarkers // Tetrahedron Letters. 2017. V. 58. P. 1437–1440.
  18. Moravie R. M., Froment F., Corset J. Vibrational spectra and possible conformers of dimethylmethylphosphonate by normal mode analysis // Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. 1989. V. 45. P. 1015–1024.
  19. Gu M., Turecek F. The precursor scan. A new type of experiment in neutralization-reionization mass spectrometry // Organic Mass Spectrometry. 1993. V. 28. P. 1135–1143.
  20. Kins C.F., Dudenko D., Sebastiani D., Brunklaus G. Molecular mechanisms of additive fortification in model epoxy resins: a solid state NMR study // Macromolecules. 2010. V. 43. P. 7200–7211.
  21. Abbott A., Sierakowski T., Kiddle J.J. et al. Detailed investigation of the radical-induced destruction of chemical warfare agent simulants in aqueous solution // Journal of Physical Chemistry B. 2010. V. 114. No. 22. P. 7681–7685.
  22. Huras B., Konopski L., Zakrzewski J. A simple efficient synthesis of [2H10]deuterated bromfenvinphos by the Perkow reaction // Journal of Labelled Compounds and Radiopharmaceuticals. 2011. V. 54, No. 7. P. 399–400.
  23. Крилов В.І., Крилов І.І., Яшкір В.А., Рыбальченко І.В. Синтез О-тирозинфосфорилированных аддуктов различных производных метилфосфоновой и фосфорной кислот в качестве соединений сравнения для анализа биомедицинских проб // Вестник войск РХБ защиты. 2019. Т. 3. № 2. С. 103–110.
  24. Krylov V.I., Krylov I.I., Yashkir V.A., Rybalchenko I.V. Synthesis of O-tyrosine Phosphorylated Adducts of Methylphosphonic and Phosphoric Acid Derivatives as Reference Compounds for the Analysis of Biomedical Samples // Journal of NBC Protection Corps. 2019. V. 3. № 2. P. 103–110 (in Russian).
  25. Petrov K.A., Baksova R.A., Khorkhoyan L.V. et al. Synthesis of mono(2-ethylhexyl) ester of methylphosphinic acid // Zh. Prikl. Khim. 1966. V. 39. P. 2798.
  26. Родин И.А., Байгельдиев Т.М., Крилов В.І. и др. Фосфорилирование тирозина и трипептида (Tyr-Thr-Lys) циклогексил метил- и (дейтерометил) хлорфосфонатами // Журнал общей химии. 2020. Т. 90. № 4. С. 557–562.
  27. Rodin I.A., Baygildiev T.M., Krylov V.I. et al. Phosphorylation of Tyrosine and Tyr-Thr-Lys Tripeptide with Cyclohexylmethyl- and (Deuteromethyl)

phosphonochlorides // Russian Journal of General Chemistry. 2020. V. 90. № 4. P. 619–623 (in Russian).

26. Rodin I.A., Baygildiev T.M., Krylov V.I. et al. Synthesis of the Tripeptides Tyr-Thr-Lys Phosphorylated

with Isopropyl Methyl- and (Deuterometyl) phosphonochlorides as Reference Standards for the Analysis of Biomedical Samples // Russian Journal of General Chemistry. 2019. V. 89. No. 10. P. 2103–2107.

### Об авторах

Федеральное государственное бюджетное учреждение «27 Научный центр» Министерства обороны Российской Федерации, 105005, Российская Федерация, г. Москва, Бригадирский переулок, д. 13.

Яшкир Вадим Анатольевич. Старший научный сотрудник отдела, канд. хим. наук, доцент.

Крылов Владислав Игоревич. Научный сотрудник отдела.

Крылов Игорь Иванович. Старший научный сотрудник отдела, канд. хим. наук, доцент.

Браун Аркадий Владимирович. Старший научный сотрудник отдела, канд. хим. наук.

Орешкин Дмитрий Владимирович. Научный сотрудник отдела.

Рыбальченко Игорь Владимирович. Ведущий научный сотрудник отдела, доктор хим. наук, профессор.

Фатеенков Владимир Николаевич. Начальник отдела, канд. воен. наук, доцент.

Контактная информация для всех авторов: 27nc\_1@mil.ru

Контактное лицо: Яшкир Вадим Анатольевич; 27nc\_1@mil.ru

## Synthesis of Deuterated Methylphosphonic Acid Derivatives for Use as Standard Compounds in the Analysis of Toxic Chemicals

Yashkir V.A., Krylov V.I., Krylov I.I., Brown A.V., Oreshkin D.V.,

Rybalchenko I.V., Fateenkov V.N.

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Brigadirsky lane 13, Moscow 105005, Russian Federation

Received 5 September 2021. Accepted 23 September 2021.

One of the ways to ensure high reliability of detection, identification and accuracy of quantitative determination of toxic chemicals (TC) in environmental and biomedical samples by gas and liquid chromatography-mass spectrometry methods is to use internal standards (IS) as additives to the analyzed sample, which, in contrast from target TC, contain stable isotopes such as D,  $^{13}\text{C}$ ,  $^{15}\text{N}$ ,  $^{18}\text{O}$ . In this case, preference is given to the most accessible stable deuterated compounds. IS labeled with stable isotopes are widely used in numerous studies to develop methods for the analysis of various toxic chemicals, in particular, alkylphosphonic acids. For the prompt and high-quality performance of the tasks assigned to the assigned laboratory, it seems necessary to have a physical bank of samples labeled with stable IS isotopes, corresponding to those TC, the appearance of which in the analyzed samples is most likely. These include, first of all, stable decomposition products of such as sarin, soman, cyclosarin, VX, VR, CVX, namely, methylphosphonic acid, its ethyl, isopropyl, butyl, isobutyl, pinacolyl and cyclohexyl esters, as well as the corresponding symmetric diesters. In accordance with the objectives of the article, we have synthesized the IS composition of deuteromethylphosphonic acid and its derivatives: acid chlorides of O-alkyl esters of deuteromethylphosphonic acids, acid O-alkyl esters of deuteromethylphosphonic acids, O, O-dialkyl esters of deuteromethylphosphonic acids, and also adducts of tyrosine and tripeptide Tyr-Thr-Lys with chlorides of O-isopropyl and O-cyclohexyl esters of deuteromethylphosphonic acid. NMR  $^2\text{H}$ ,  $^{31}\text{P}$ , GC-MS and HPLC-MS spectral characteristics of the synthesized substances were studied.

**Keywords:** deuterium; deuteromethylphosphonic acid; GC-MS; HPLC-MS; internal standard; isomerization; isotope; NMR spectroscopy; phosphonate; phosphonic acid; spectrometry; synthesis; triisopropyl phosphite.

**For citation:** Yashkir V.A., Krylov V.I., Krylov I.I., Brown A.V., Oreshkin D.V., Rybalchenko I.V., Fateenkov V.N. Synthesis of Deuterated Methylphosphonic Acid Derivatives for Use as Standard Compounds

**Conflict of interest statement**

The authors declare that the research was conducted in the absence of any commercial or financial relationship that could be construed as a potential conflict of interest.

**Peer review information**

The article has been peer reviewed by two experts in the respective field. Peer reviews are available from the Editorial Board and from Russian Science Citation Index database.

**References**

See P. 213–215.

**Authors**

Federal State Budgetary Establishment «27 Scientific Centre» of the Ministry of Defense of the Russian Federation, Brigadirsky lane 13, Moscow 105005, Russian Federation.

*Vadim Anatolyevich Yashkir.* Senior Researcher of the Department. Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor.

*Vladislav Igorevich Krylov.* Researcher of the Department.

*Igor Ivanovich Krylov.* Senior Researcher of the Department. Candidate of Chemical Sciences, Associate Professor.

*Arkadiy Vladimirovich Braun.* Senior Researcher of the Department. Candidate of Chemical Sciences.

*Dmitriy Vladimirovich Oreshkin.* Researcher of the Department.

*Igor Vladimirovich Rybalchenko.* Leading Researcher of the Department. Doctor of Chemical Sciences, Professor.

*Vladimir Nikolaevich Fateenkov.* Head of the Department. Candidate of Military Sciences, Associate Professor.

**Contact information for all authors:** 27nc\_1@mil.ru

**Contact person:** Vadim Anatolyevich Yashkir; 27nc\_1@mil.ru