



УДК 577.113.3.057

## АМИНОНУКЛЕОЗИДЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ

## XI\*. СИНТЕЗ 3'-АМИНО-2', 3'-ДИДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИД-5'-ТРИФОСФАТОВ

*Зайцева В. Е., Дяткина Н. Б., Краевский А. А.,  
Скапцова Н. В., Турина О. В., Гнучев Н. В.,  
Готтих Б. П., Ажаев А. В.*

*Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва*

На основе известных литературных способов с рядом модификаций осуществлен синтез 3'-азидо-2',3'-дидезоксинуклеозидов с основаниями тимин, аденин и гуанин, а также разработаны новые схемы синтеза соединений той же группы с основаниями цитозин и урацил. Из 3'-азидо-2',3'-дидезоксинуклеозидов получены их 5'-моно- и 5'-трифосфаты и последние восстановлены в 3'-амино-2',3'-дидезоксинуклеозид-5'-трифосфаты. Синтезированные трифосфаты 3'-амино-2',3'-дидезоксинуклеозидов оказались эффективными ингибиторами синтеза ДНК, катализируемого различными ДНК-полимеразами.

Некоторое время назад нами был осуществлен синтез 3'-амино-3'-дезоксинуклеозид-5'-моно- [2] и трифосфатов [3] с четырьмя нуклеиновыми основаниями: аденином, гуанином, урацилом и цитозином. Эти соединения оказались эффективными терминаторами синтеза РНК, катализируемого ДНК-зависимой РНК-полимеразой из *E. coli* [3]. В продолжение этих исследований нами осуществлен синтез четырех 3'-амино-2',3'-дидезоксинуклеозид-5'-трифосфатов с основаниями аденин, гуанин, цитозин и тимин.

Синтез 3'-азидо-3'-дезокситимидина (III) исходя из тимидина описан в литературе неоднократно. Во всех случаях он осуществлен размыканием ангидроцикла в 2,3'-ангидротимидине (защищенном по 5'-гидроксилу или свободном) действием азиды натрия или азиды лития. Одна из наиболее эффективных препаративных схем была предложена в работе Фокса и Миллера [4]. Позднее появились два сообщения, методически менее разработанные [5, 6]. 5'-О-Тритилтимидин был активирован по 3'-положению образованием метансульфонильного производного и циклизован в 5'-О-тритил-2,3'-ангидротимидин (IV), который реакцией с  $\text{LiN}_3$  превращен в соответствующий азид (Va) (схема 1) и детритилирован в нуклеозид (III). Этот путь был повторен нами и модифицирован методически на стадии превращения циклонуклеозида (IV) в азидонуклеозид (Va). Лучшая растворимость  $\text{LiN}_3$  (по сравнению с  $\text{NaN}_3$ ) в диметилформамиде дала возможность увеличить выход конечного продукта (Va) (схема 1).

В литературе предложен также способ синтеза азиды (III) без предварительной защиты гидроксила в 5'-положении тимидина реакцией с диэтил-1,1,2-трифтор-2-хлорэтиламином [7]. Однако в этом синтезе отмечен низкий выход на стадии циклизации (40%). Поэтому этот путь нами модифицирован в соответствии со схемой 1. Проведено метансульфонилирование гидроксильных групп в 3'- и 5'-положениях тимидина с образованием 3',5'-ди-О-метансульфонилтимидина (I) (выход 90–95%), который при обработке специально приготовленным толуилатом лития превращен в ангидропроизводное (II) с выходом 93–95%. Далее 2,3'-ангидротимидин (II) превращался в азидопроизводное с помощью  $\text{LiN}_3$  аналогично методу, предложенному в работе [7]. Помимо этого был получен 3'-азидо-5'-О-ацетил-3'-дезокситимидин (Vб): реакционная масса после обработки  $\text{LiN}_3$

\* Сообщение X см. [1]. Сокращения: ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография, DMF – диметилформамид, Ms – метансульфонил (мезил), Tr – тритил.

Схема 1

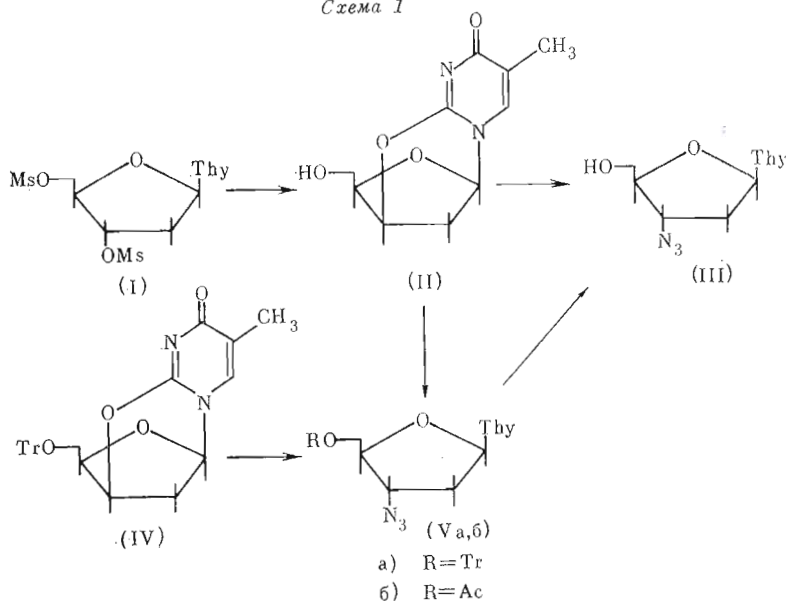
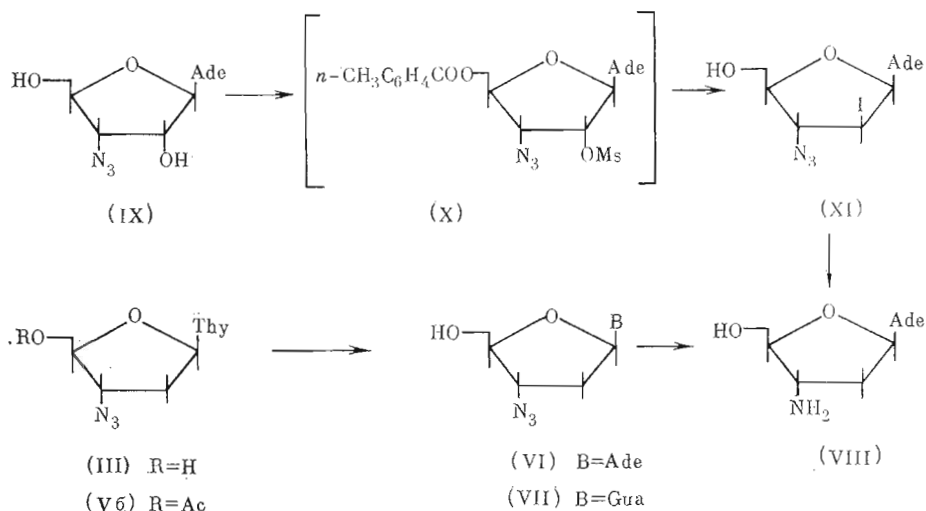


Схема 2



без выделения нуклеозида (III) была подвергнута ацетилированию с получением азида (Vб).

Синтез 3'-азидо-2',3'-дидезоксигуанозина (VII) и 3'-азидо-2',3'-дидезоксиаденозина (VI) проведен реакцией трансгликозилирования по известному методу Имезава и Экштейна [8] (схема 2). Трансгликозилирование проводилось в двух вариантах: исходя как из 3'-азидо-3'-дезокситимидина (III), так и из его 5'-О-ацетильного производного (Vб).

Выход и экспериментальные условия обеих реакций существенно не различались. Единственной незначительной модификацией методики по сравнению с приведенной в работе [8] являлось использование для трансгликозилирования N-бензоиладенина вместо N-октаноиладенина.

Исходя из 3'-азидо-3'-деоксиаденозина (IX) [2], нами проведен синтез 3'-амино-2',3'-дидезоксиаденозина (VIII). Метансульфонилирование производного (IX) с последующей обработкой *n*-толуилатом лития позволяет получить 5'-О-толуильное производное (X), которое реакцией с NaI переводят в 9-(β-D-3-азидо-2,3-дидезокси-2-иодарабинофуранозил)аденин (XI). Общий выход на исходный азид (IX) составил 14%. Восстановление азида (XI) трибутилстаганом привело к амину (VIII).

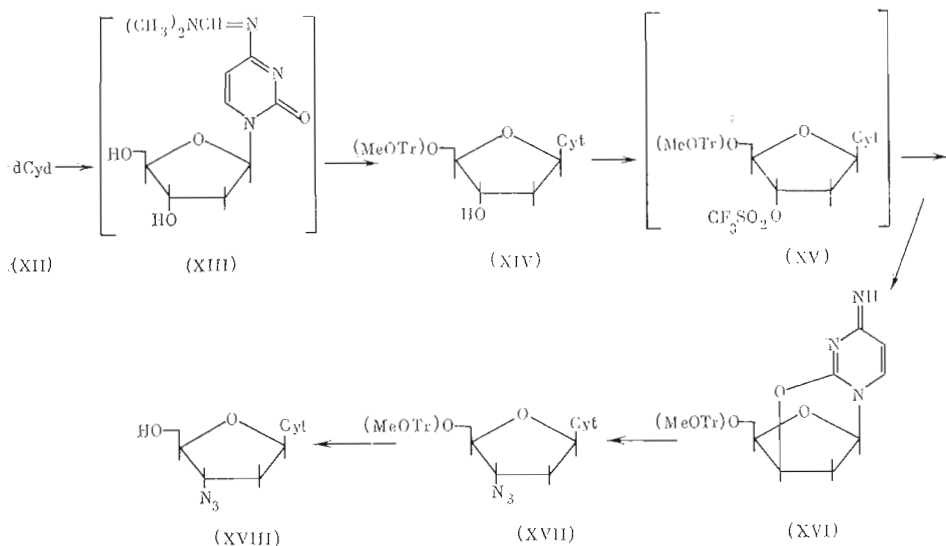
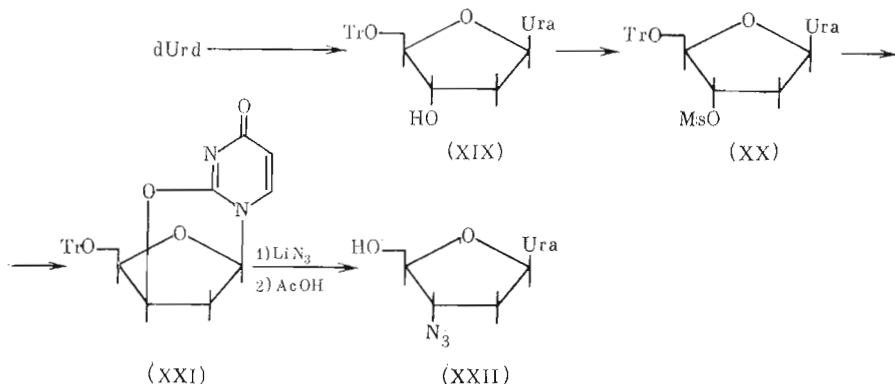


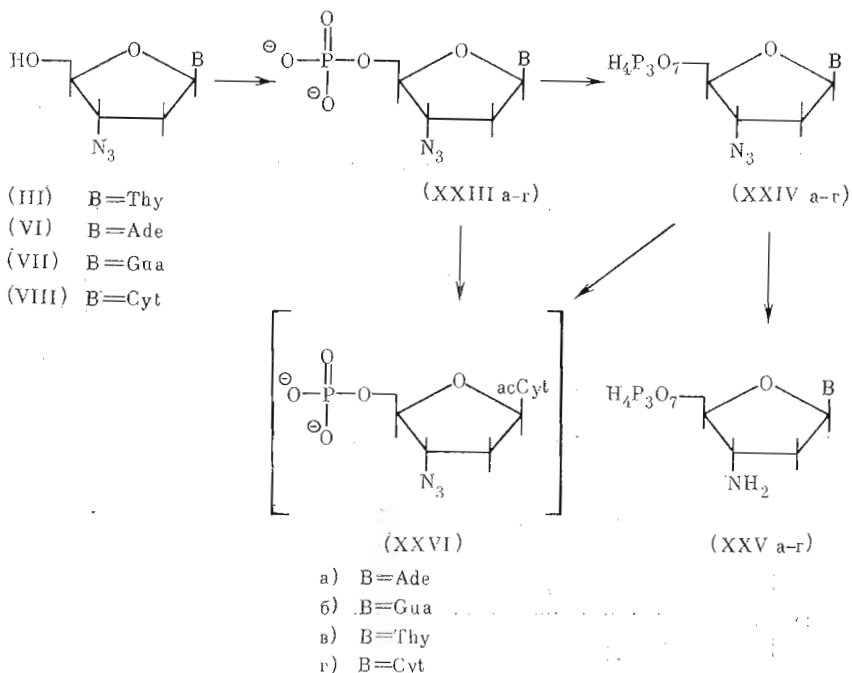
Схема 4



В 1983 г. появились два сообщения о синтезе 3'-азидо-2',3'-дидезоксицитидина из 3'-азидо-2',3'-дидезоксиуридина замещением карбонила при атоме С4 на  $\text{NH}_2$ -группу [9, 10]. Этот способ получения при сравнительно высоком выходе на каждой промежуточной стадии имеет существенный недостаток: исходный 2'-дезоксидеоксиуридин весьма труднодоступен.

Нами 3'-азидо-2',3'-дидезоксицитидин (XVIII) получен из 2'-дезоксидеоксицитидина (XII) через 2,3'-ангидропроизводное (XVI) (схема 3). 2'-Дезоксицитидин (XII) превращают в N<sup>4</sup>-диметиламинометиленовое производное (XIII), гидроксил в 5'-положении которого защищают монометокситритильной группой, и выделенный нуклеозид (XIV) активируют образованием трифторметансульфонильного производного (XV), который самопроизвольно циклизуется в 2,3'-ангидро-5'-мометокситритилцитидин (XVI). Последний реакцией с  $\text{LiN}_3$  переводят в азид (XVII), далее превращаемый в нуклеозид (XVIII).

По схеме 4 осуществлен синтез 3'-азидо-2',3'-дидезоксиуридина (XXII) из 2'-дезоксидеоксиуридина. 2'-Дезокси-5'-О-тритуридин (XIX) метансульфонилируют по 3'-положению в производное (XX), которое циклизуют в 2,3'-ангидро-2'-дезоксидеокси-5'-О-тритуридин (XXI). Размыкание ангидроцикла производного (XXI) с помощью  $\text{LiN}_3$  с последующим деблокированием 5'-гидроксильной группы позволяет получить 3'-азидо-2',3'-дидезоксиуридин (XXII). Попытки провести синтез азиды (XXII) циклизацией 2'-дезоксидеокси-3',5'-ди-О-метансульфонилуридина аналогично схеме 1 к успе-



ху не привели, возможно, вследствие большей трудности циклизации 2'-дезоксинуридина по сравнению с тимидином.

Авторам работы [9] не удалось выделить ангидропроизводное (XXI), поскольку оно сразу же гидролизовалось в производное 1-(β-D-2-дезоксисилофуранозил)урацила, гидроксил в 3'-положении которого повторно метансульфонилировали и реакцией с LiN<sub>3</sub> превращали в соответствующее азидопроизводное. Таким образом, описанный в работе [9] способ синтеза азида (XXII) на две стадии длиннее предлагаемого здесь.

В появившемся позднее сообщении [10] описан и другой метод синтеза 3'-азидо-2',3'-дидезоксинуридина (XXII) — через 1-(β-D-2,3-дидезокси-3-хлорсилофуранозил)урацил, — приводящий, однако, к конечному соединению с низким выходом.

Из 3'-азидо-2',3'-дидезоксинуклеозидов синтезированы их 5'-монофосфаты (XXIII a-r), 5'-трифосфаты (XXIV a-r) и 3'-амино-2',3'-дидезоксинуклеозид-5'-трифосфаты (XXV a-r) по схеме, аналогичной схеме синтеза в риборяду (схема 5).

Фосфорилирование 3'-азидо-2',3'-дидезоксинуклеозидов осуществляют действием POCl<sub>3</sub> в (EtO)<sub>3</sub>PO, и образовавшиеся 3'-азидо-2',3'-дидезоксинуклеозид-5'-монофосфаты (XXIII a-r) активацией N,N'-карбонилдимидазолом и последующим пирофосфорилизом превращают в 3'-азидо-2',3'-дидезоксинуклеозид-5'-трифосфаты (XXIV a-r). В связи с обнаружением побочных реакций при активации 3'-азидо-2',3'-дидезоксицитидин-5'-фосфата (XXIII г) это соединение предварительно ацетилируют уксусным ангидридом и далее без выделения N-ацетилпроизводного (XXVI) превращают в 5'-трифосфат (XXIV), как это описано для подобного аналога риборяда [3]. Полученные 3'-азидо-2',3'-дидезоксинуклеозид-5'-трифосфаты (XXV a-r) восстанавливают в амины (XXV a-r) с помощью трифенилфосфина по методу [3].

Физико-химические характеристики синтезированных соединений приведены в табл. 1, 2, а их ДМР-спектры — в табл. 3, 4.

Все синтезированные 3'-амино-2',3'-дидезоксинуклеозид-5'-трифосфаты (XXV a-r) оказались эффективными ингибиторами биосинтеза ДНК, катализируемого ДНК-зависимыми ДНК-полимеразами: I из *E. coli*, полимеразой α из тимуса телянка, полимеразой β из печени крысы и РНК-зави-

Выход и некоторые характеристики полученных нуклеозидов

Соединение	Выход, %	Т. пл., °С	$R_f$ в системах					УФ-спектр (этанол): $\lambda_{\text{макс}}$ , нм ( $\epsilon$ )
			А	Б	В	Г, Д	Е	
(I)	92,7	172–173,5			0,90			262
(II)	94,0	252–258				0,70		241 (16 700)
(XI)	14,0				0,26			259
(XIV)	48,6	176–180	0,50					273
(XVI)	72,0	108–114			0,48			232 (11 400)
(XVII)	57,5	134–136	0,20		0,37	0,63		270
(XVIII)	55,0	160–163				0,24	0,80	271
(XIX)	58,0	72–77	0,12			0,75		230 (10 350),
(XX)	97,0	115–120	0,18			0,85		250 плечо
(XXI)	56,4	107–108		0,36				(5400)
(XXII)	53,0	169–170	0,13		0,35	0,55		262

Таблица 2

Выход и некоторые характеристики полученных нуклеотидов

Соединение	Выход, %	$R_f$ в системах			$E_f$ (рН 7,5)	УФ-спектр (вода): $\lambda_{\text{макс}}$ , нм
		Д	Е	Ж		
(XXIIIa)	80	0,32	0,34		0,77	259
(XXIIIб)	60	0,36	0,30	0,52	0,90	250,270 (плечо)
(XXIIIв)	77	0,35	0,35		0,67	269
(XXIIIг)	70	0,38	0,33			272
(XXIVa)	43			0,12	1,03	259
(XXIVб)	51			0,07	0,94	250,270 (плечо)
(XXIVв)	66	0,07	0,05	0,38	1,06	270
(XXIVг)	76			0,20	1,10	273
(XXVa)	68			0,07	1,02	260
(XXVб)	38			0,04	1,00	253,270 (плечо)
(XXVв)	90	0,06	0,04	0,08	1,10	269
(XXVг)	75			0,11	1,15	272

симой ДНК-полимеразой из инфицированных вирусом миелобластога эмбрионов цыплят. Механизм действия аминов (XXV а–г) состоял в терминции синтеза ДНК вследствие включения в 3'-положение растущей цепи. По терминаторным свойствам они превосходят применяемые для секвенирования ДНК по методу Сэнгера 2',3'-дидезоксинуклеозид-5'-трифосфаты и поэтому могут найти широкое применение для определения первичной структуры ДНК [11].

### Экспериментальная часть

ТСХ проводили на стандартных пластинках Silufol UV<sub>254</sub> (ЧССР) или Kieselgel 60F<sub>254</sub> (Merck, ФРГ). Системы: хлороформ – этанол, 25:1 (А); хлороформ – этанол, 20:1 (Б); хлороформ – этанол, 9:1 (В); хлороформ – этанол, 4:1 (Г); изопропанол – аммиак – вода, 7:1:2 (Д); *n*-бутанол – АсОН – вода, 5:2:3 (Е); диоксан – вода – аммиак, 6:4:1 (Ж). Электрофорез выполняли в течение 1 ч на бумаге Whatman 1 (Англия) в 0,02 М ТЕАВ (рН 7,5) при градиенте потенциала 22 В/см<sup>2</sup>. Величины электрофоретических подвижностей указаны относительно соответствующих природных нуклеотидов. Колоночную хроматографию проводили на силикагеле L 40/100 (Chemapol, ЧССР), ВЭЖХ – на колонках  $\mu$  Bondapak C<sub>18</sub> (Waters, США) размером 0,3×30 см или Zorbax NH<sub>2</sub> (Du Pont, США) размером 0,46×25 см. Жидкостный хроматограф – Varian 8500 (США). Скорость элюции во всех случаях – 1 мл/мин.

Химические сдвиги ( $\delta$ , м.д.) и константы спин-спинового взаимодействия ( $J$ , Гц) протонов в ПМР-спектрах синтезированных нуклеозидов \*

Соединение	H-6 ( $J_{5,6}$ )	H-5	H-1'	H-2'	H-3'	H-4' H-5'a, б		Прочие
	или H-8	** H-2	( $J_{1',2'}$ )	( $J_{2',3'}$ )	( $J_{3',4'}$ )	( $J_{4',5'a, б}$ )		
(I)	7,46д (1,0)		6,14т (6,0)	2,56– 2,34м	5,25н	4,46–4,22м		1,72д (5-CH <sub>3</sub> , $J$ 1,0), 3,26 с и 3,20с (2CH <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ) 7,32шс (NH <sub>2</sub> )
(XI)	8,38с	8,18с	6,28д (4,0)	5,85дд (5,7)	4,80т (5,7)	4,04дд (1,5)	3,77т	–
(VIII)	8,22с	8,04с	6,31дд (4,7)	2,88– 2,22м	4,04–3,60м			–
(XVIII)	7,78д (8,0)	5,72д	6,07т (6,0)	2,34– 2,17м	4,37– 4,30м	3,86–3,58м		5,20с (5'-OH) 7,21д (4-NH <sub>2</sub> ) 7,52–7,18м (Tr), 8,64шс (H-3)
(XIX)	7,44д (8,0)	5,42д	6,30т (6,0)	2,60– 2,06м	4,54дд (7,0)	4,08д (4,0)	3,48д	7,50–7,15м (Tr), 3,06с (CH <sub>3</sub> SO <sub>2</sub> ), 9,47шс (H-3)
(XX)	7,66д (8,0)	5,43д	6,34т (6,0)	2,83– 2,39м	5,38н (5,0)	4,32дд (3,0)	3,53д	7,36–7,06м (Tr) 9,42шс (H-3)
(XXI)	7,06д (8,0)	5,88д	5,50д (4,0)	2,72– 2,18м	5,12н (3,0)	4,24м (6,2)	3,36д	–
(XXII)	8,03д (8,0)	5,84д	6,38т (6,4)	2,38м (5,9)	4,58дд (8,1)	3,88дд (4,0)	3,66т	–

\* Спектры соединений (I), (XI), (XXII) сняты в DMSO-d<sub>6</sub>, (VIII) и (XVIII) – в D<sub>2</sub>O, прочие – в CDCl<sub>3</sub>.

\*\* H-6 и H-5 для пиримидинов, H-8 и H-2 для пуринов.

Таблица 4

Химические сдвиги ( $\delta$ , м.д.) и константы спин-спинового взаимодействия ( $J$ , Гц) протонов в ПМР-спектрах (сняты в D<sub>2</sub>O) синтезированных нуклеотидов

Соединение	H-6 ( $J_{5,6}$ )	H-5	H-1'	H-2'	H-3'+H-4'	H-5'	CH <sub>2</sub> (J)
	или H-8	* H-2	( $J_{1',2'}$ )	( $J_{2',3'}$ )			
(XXIIa)	8,42с	8,18с	6,39т (6,5)	3,08–2,56м	5,00–4,20м	4,18–4,00 м	
(XXIIб)	7,94с		6,88т (7,0)	2,06–2,65м	4,85–4,03 м		
(XXIIв)	7,66д (1,0)		6,16т (6,0)	~2,50м	4,60–3,95м		1,94д (1,0)
(XXIIг)	7,66д (8,0)	5,79д	5,95т (6)	2,91–2,14м	4,21–3,89м	3,84–3,81м	–
(XXIVa)	8,59с	8,30с	6,50т (6,5)	3,04–2,54м	4,84–4,04м		
(XXIVб)	7,98с		6,90т (7,0)	2,98–2,58м	4,90–4,10м		
(XXIVв)	7,99с		6,32т (3,0)	2,69–2,57м	4,40–4,02м		1,79 (<1,0)
(XXIVг)	7,60д (8,0)	5,80д	5,98т (6,0)	2,60–2,42м	4,20–3,70м		
(XXVa)	8,40с	8,20с	6,30т (4,6)	3,06–2,65м	5,00–4,17м		
(XXVб)	7,96с		6,80т (5,6)	2,92–2,70м	5,02–4,13м		
(XXVв)	7,75д (<1)		6,37т (4,5)	2,87–2,64м	4,50–3,96м		1,94д (<1)
(XXVг)	7,62д (8,0)	5,78д	5,90т (4,5)	2,85–2,62м	4,34–3,78м		

\* H-6, H-5 для пиримидинов, H-8, H-2 – для пуринов.

Для анализа нуклеозидов промывали колонку  $\mu$  Bondapak C<sub>18</sub> 0,1 М NH<sub>4</sub>OAc (5 мин) и затем элюировали соединения метанолом в 0,1 М NH<sub>4</sub>OAc (линейный градиент — 0,1 М NH<sub>4</sub>OAc — 90% метанол в 0,1 М NH<sub>4</sub>OAc, 25 мин). Для анализа нуклеозидтрифосфатов промывали колонку Zorbax NH<sub>2</sub> 0,05 М NH<sub>4</sub>OAc (5 мин), а затем проводили элюцию NH<sub>4</sub>OAc и метанолом (линейный градиент 0,05 М NH<sub>4</sub>OAc — 20% метанол в 2 М NH<sub>4</sub>OAc, 25 мин). Поглощение элюатов при 260 нм детектировали с помощью проточного спектрофотометра Varian UV-50 (США). ИК-спектры регистрировали в вазелиновом масле на ИК-спектрометре Perkin — Elmer 250 (США).

УФ-спектры регистрировали на спектрофотометре Beckman 25 (США); спектры <sup>1</sup>H-ЯМР — на спектрометре Varian XL 100-15 (США) с частотой 100 МГц в D<sub>2</sub>O с *трет*-бутанолом в качестве внутреннего стандарта, в DMSO-*d*<sub>6</sub> или CDCl<sub>3</sub> с тетраметилсиланом в качестве внутреннего стандарта. В ЯМР-спектрах приняты обозначения: с — синглет, д — дублет, т — триплет, м — мультиплет, н — не разрешен, шс — широкий синглет, дд — дублет дублетов.

Элементный анализ (С, Н и N) всех производных нуклеозидов был удовлетворительным. Все азидонуклеозиды имели полосу поглощения в ИК-спектре при 2100 см<sup>-1</sup>.

Характеристики нуклеозидов (III), (VI), (VII), (XVIII) совпадают с литературными данными [4—10].

*3',5'-Ди-О-метансульфонилтимидин (I)*. Раствор 10 г (41,3 ммоль) тимидина в 150 мл пиридина охлаждали до 0°С и в течение 30 мин прибавляли 32 мл (41,3 ммоль) метансульфохлорида. Реакционную смесь перемешивали 1 ч при 20°С, выливали в 1,5 л смеси воды со льдом. Осадок отфильтровывали, сушили, кристаллизовали из метанола. Получили 15,2 г кристаллического вещества. Физико-химические данные см. в табл. 1, данные ПМР — в табл. 3.

*2,3'-Ангидро-1-(β-D-ксилофуранозил)тимин (II)*. Перемешивали 4 ч при 100°С в 100 мл DMF 8,0 г (20,1 ммоль) 3',5'-ди-О-метансульфонилтимидина (I) и 14 г (100 ммоль) толуилата лития, приготовленного следующим образом: 0,1 моль (13,6 г) *n*-толуиловой кислоты смешивали с раствором 0,12 моль (2,9 г) LiOH в 100 мл воды (полученный раствор имел pH 9), воду упаривали, осадок тщательно высушивали. Реакционную массу выливали в 2 л смеси воды со льдом. Осадок отфильтровывали, сушили, кристаллизовали из метанола. Выход 4,0 г (см. табл. 1 и 3).

*3'-Азидо-3'-дезокситимидин (III)*. а. Суспендировали 4,9 г (21,9 ммоль) ангидротимидина (II) и 10 г (200 ммоль) LiN<sub>3</sub> в 60 мл DMF, нагревали 2 ч при 110°С, реакционную массу упаривали досуха, остаток промывали хлороформом (5×50 мл), тщательно растирая осадок в растворителе, экстракты фильтровали, упаривали до малого объема и наносили на колонку (20×3 см) с силикагелем. Вещества элюировали 500 мл хлороформа, затем 500 мл 1% метанола в хлороформе. Фракции, содержащие азид (III), упаривали. Выход кристаллического вещества 4,1 г (76,4%).

б. Нагревали 50 мин при 150°С 4,5 г (9,7 ммоль) 5'-О-тригидрокси производного (IV) и 2,4 г (47 ммоль) LiN<sub>3</sub> в 50 мл DMF, реакционную смесь упаривали досуха. Осадок промывали хлороформом (5×10 мл), органические вытяжки фильтровали, упаривали. Остаток, содержащий азид (Va), растворяли в 50 мл 80% уксусной кислоты и нагревали 2 ч при 50°С. Смесь оставляли на ночь при 4°С, выкристаллизовавшееся вещество отделяли, раствор упаривали и остаток очищали на колонке с силикагелем аналогично методике «а». Выход 2,16 г (83,6%).

*3'-Азидо-5'-О-ацетил-3'-дезокситимидин (Vб)*. Полученный по предыдущей методике 3'-азидо-3'-дезокситимидин (III) (из загрузки по методике «а») после упаривания DMF растворяли в 50 мл пиридина, приливали 20 мл уксусного ангидрида и нагревали 2 ч при 60°С. Реакционную массу выливали в 1 л воды со льдом, вещество экстрагировали хлороформом (5×50 мл), объединенные экстракты промывали 50 мл 5% NaHCO<sub>3</sub>, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрировали и наносили на колонку (20×3 см) с силикагелем. Вещества элюировали 2% метанолом в хлороформе. Фракции,



содержащие ацетат (Vб), упаривали. Получали 3,4 г (61%) маслообразного продукта.  $R_f$  0,59 (В),  $\lambda_{\text{max}}$  264 нм (этанол).

*3'-Азидо-2',3'-дидезоксиаденозин* [VI]. а. Суспендировали 630 мг (2,36 ммоль) 3'-азидо-3'-дезокситимидина (III), 1,13 г (4,7 ммоль) 6-N-бензоиладенина и 1 г (4,2 ммоль) N,O-бис(триметилсилил)ацетамида. Массу кипятили до полного растворения, добавляли 0,6 мл (3,5 ммоль) триметилсилилтрифторметансульфоната, кипятили еще 2 ч и упаривали. Осадок растворяли в 50 мл метанола, насыщенного при 0° С аммиаком, и оставляли на 24 ч при 20° С. Упаривали, остаток растворяли в 75 мл смеси этанола и 1 М  $\text{NH}_4\text{OH}$  (1 : 2) и наносили на колонку со 100 мл дауэкса 1×4 (OH<sup>-</sup>). Вещество элюировали 60% этанолом. Фракции, содержащие нуклеозид (VI) (а также его  $\alpha$ -аномер), упаривали в 10 мл 2% метанола в хлороформе и наносили на колонку (12×2,5 см) с силикагелем. Элюцию проводили последовательно 2, 4 и 6% метанолом в хлороформе (по 200 мл), затем 400 мл 9% метанола в хлороформе. Фракции, содержащие продукт (VI) ( $R_f$  0,66 (Б)), объединяли, упаривали, остаток кристаллизовали из воды. Получали 170 мг (27,5%) нуклеозида (VI), т. пл. 189–190° С. Из фракций, содержащих вещество с  $R_f$  0,54 (Г), получали 220 мг (35%)  $\alpha$ -аномера, т. пл. 140–141° С (этанол).

б. Из азиды (Vб) получали нуклеозид (VI) по аналогичной методике. Выход 33%, т. пл. 189–190° С, ВЭЖХ, время удерживания 16,5 мин.

*3'-Азидо-2',3'-дидезоксигуанозин* (VII) получали из азидотимидина (III) или его ацетильного производного (Vб) и 2-N-пальмитоилгуанина по описанной методике [8]. Выход 28 и 30% соответственно, т. пл. >310° С (разл.), ВЭЖХ, время удерживания 13 мин.

*9-( $\beta$ -D-3'-Азидо-2,3'-дидезокси-2-идоарабинофуранозил)аденин* (XI). 3'-Азидо-3'-дезоксиденозин (876 мг, 3 ммоль) растворяли в 70 мл абс. пиридина, охлаждали до 0° С. К раствору прибавляли 3 мл (30 ммоль) метансульфохлорида и оставляли при 4° С на 18 ч. Реакционную массу выливали в 300 мл воды со льдом, вещества экстрагировали хлороформом (5×70 мл), объединенные экстракты сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упаривали. Следы пиридина удаляли многократным упариванием с толуолом. Полученный димезилат (выход 1,28 г (95%),  $R_f$  0,63 (В)) растворяли в 50 мл DMF, вносили 1,8 г (12 ммоль) *n*-толуилата лития и нагревали 1,5 ч с перемешиванием при 80° С. Реакционную массу выливали в 600 мл воды со льдом, выпавший осадок отфильтровывали и наносили на колонку (3×20 см) с силикагелем. Элюцию проводили 3% метанолом в хлороформе. Фракции, содержащие нуклеозид (X) ( $R_f$  0,55 (В)), упаривали (получено 700 мг продукта). Растворяли производное (X) в 50 мл DMF, вносили 1,6 г (11 ммоль) NaI, реакционную смесь нагревали 4 ч при 120° С, охлаждали и выливали в 200 мл воды со льдом. Вещество экстрагировали этилацетатом (4×50 мл), органические экстракты промывали 30 мл 5% раствора  $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_3$ , сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$  и упаривали. К остатку добавляли 25 мл конц. аммиака и оставляли на 18 ч. Раствор упаривали, остаток растворяли в 300 мл воды и наносили на колонку (3×25 см) с дауэксом 50×4 (H<sup>+</sup>). Колонку промывали 60% этанолом до исчезновения поглощения при 260 нм, соединение (XI) элюировали 2,5%  $\text{NH}_4\text{OH}$  в 60% этаноле и элюат упаривали. Остаток наносили на колонку (3×2,5 см) с дауэксом 1×4 (OH<sup>-</sup>), промывали 250 мл воды и элюировали 60% этанолом. Фракции, содержащие нуклеозид (XI), упаривали. Выход 170 мг.

*3'-Амино-2',3'-дидезоксиаденозин* (VIII). а. К кипящему раствору 17 мг (0,04 ммоль) азиды (XI) в 15 мл тетрагидрофурана добавляли по каплям в атмосфере азота 50 мг (0,16 ммоль) три-*n*-бутилстаннана и 2 мг азобисизобутиронитрила в 10 мл тетрагидрофурана. Реакционную массу кипятили 4 ч, вносили еще 12,5 мг (0,04 ммоль) трибутилстаннана и кипятили еще 2 ч. Смесь упаривали досуха, остаток распределяли между 20 мл воды и 20 мл бензола, органический экстракт промывали водой (2×15 мл), объединенные водные экстракты упаривали до объема 20 мл и наносили на колонку (3×1 см) с дауэксом 50×4 (H<sup>+</sup>). Колонку промывали водой до исчезновения поглощения при 260 нм и производное (VIII) элюировали 2,5%  $\text{NH}_4\text{OH}$  в воде. После упаривания получили 9 мг



(83,5%) амина (VIII). Т. пл. 188–190° С, ВЭЖХ, время удерживания 16,0 мин.

б. Из азиды (VI) получали амин (VIII) по описанной методике [8].

2'-Дезокси-5'-О-монометокситригилцитидин (XIV). Суспендировали 3 г (13 ммоль) 2'-дезоксцитидина (XII) в 25 мл DMF и прибавляли 8 мл (75 ммоль) диметилацеталя диметилформаида, перемешивали 4 ч при 20° С. (В УФ-спектре исчезает максимум при 270 нм и появляется максимум при 312 нм.) Реакционную массу упаривали, растворяли в 50 мл пиридина и прибавляли 5 г (15,6 ммоль) монометокситригилхлорида. Раствор перемешивали 40 мин при 28° С и упаривали. К остатку добавляли 30 мл конц. NH<sub>4</sub>OH и через 1 ч вновь упаривали. Остаток наносили на колонку (25×3 см) с силикагелем. Элюировали последовательно хлороформом, 1% метанолом в хлороформе и 2% метанолом в хлороформе (по 700 мл). Фракции, содержащие нуклеозид (XIV), упаривали, остаток кристаллизовали из смеси метанол — вода (5 : 1). Выход 3,9 г.

2,3'-Ангидро-1-(2-дезоксидеокси-5'-О-монометокситригил-β-D-ксилофуранозил)цитозин (XVI). К раствору 0,6 мл (3 ммоль) ангидрида трифторметансульфонокислоты в смеси 5 мл дихлорэтана и 3 мл пиридина, охлажденной до 0° С, по каплям добавляли раствор 1 г (2 ммоль) нуклеозида (XIV) в 12 мл DMF. Реакционную массу оставляли на 10 мин при 20° С, выливали в 300 мл 5% NaHCO<sub>3</sub> со льдом, вещества экстрагировали хлороформом (3×100 мл), органический экстракт промывали 5% раствором NaHCO<sub>3</sub>, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, концентрировали и наносили на колонку (20×6 см) с силикагелем.

Вещества элюировали последовательно хлороформом, 3% метанолом в хлороформе (по 500 мл) и 1 л 5% метанола в хлороформе. Фракции, содержащие ангидронуклеозид (XVI), упаривали. Выход 0,69 г.

3'-Азидо-2',3'-дидезокси-5'-О-монометокситригилцитидин (XVII). Растворяли 20 мг (0,4 ммоль) производного (XVI) в 10 мл DMF и прибавляли 200 мг (4 ммоль) азиды лития. Реакционную массу оставляли при 20° С на 10 ч, упаривали, остаток наносили на колонку (9×2 см) с силикагелем. Вещества элюировали хлороформом. Фракции, содержащие соединение (XVII), упаривали. Выход 120 мг.

3'-Азидо-2',3'-дидезоксицитидин (XVIII). Растворяли 120 мг (0,23 ммоль) нуклеозида (XVIII) в 5 мл 2% трифторуксусной кислоты в хлористом метилене. Через 10 мин к реакционной смеси добавляли 10 мл *n*-бутанола и упаривали. Операцию повторяли еще 3 раза. Остаток растворяли в 30 мл хлороформа и экстрагировали водой (3×2 мл). Водные экстракты объединяли и наносили на колонку (3×20 см) с дауксом 1×8 (OH<sup>-</sup>). Азид (XVIII) элюировали водой. Выход 60 мг, ВЭЖХ, время удерживания 5,2 мин.

2'-Дезокси-5'-О-тригилуридин (XIX). К раствору 2,0 г (8,8 ммоль) 2'-дезоксидеоксиуридина в 85 мл сухого пиридина прибавляли 2,8 г (10,1 ммоль) тритилхлорида, перемешивали 8 сут при 20° С, реакционную смесь упаривали до 1/4 объема, выливали в 130 мл смеси воды со льдом, перемешивали 1 ч и экстрагировали хлороформом (3×50 мл). Объединенные органические фазы промывали 50 мл воды, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, упаривали и остаток перекристаллизовывали из смеси хлороформ — петролейный эфир (1 : 1). Выход нуклеозида (XIX) 2,39 г.

2'-Дезокси-3'-О-метансульфонил-5'-О-тригилуридин (XX). К раствору 2,6 г (5,5 ммоль) производного (XIX) в 20 мл пиридина при 0° С прибавляли 0,65 мл метансульфонокислоты, реакционную массу оставляли при 4° С на 16 ч, прибавляли 2 мл этанола, оставляли еще на 1 ч при 4° С, выливали в 1 л воды со льдом, выпавший осадок отделяли, промывали холодной водой и сушили. Выход 2,85 г.

2,3-Ангидро-1-(2-дезоксидеокси-5'-β-D-ксилофуранозил)урацил (XXI). Нагревали до кипения 2,39 г (4,5 ммоль) соединения (XX) в 80 мл 96% этанола, носили 2,2 мл 2 н. NaOH и кипятили еще 10–12 мин. Растворитель упаривали, осадок растирали с 50 мл воды, отфильтровывали, промывали водой до pH фильтров, равных 7,0, сушили, перекристаллизовывали из смеси хлороформа и петролейного эфира. Выход 1,14 г.

*3-Азидо-2',3'-дидезоксиуридин (XXII)*. К нагретому до кипения раствору 310 мг (6,1 ммоль)  $\text{LiN}_3$  в 10 мл DMF прибавляли 648 мг (1,22 ммоль) нуклеозида (XXI) и кипятили 1 ч. Реакционную смесь охлаждали, упаривали досуха и распределяли между 90 мл воды и 20 мл хлороформа. Органический слой отделяли, водный слой экстрагировали хлороформом (2×15 мл). Объединенные органические экстракты промывали водой (10 мл), сушили и упаривали. Полученный сироп (0,8 г) растворяли в 20 мл 80% уксусной кислоты, выдерживали 5 ч при 50° С. После упаривания реакционной массы и удаления уксусной кислоты азеотропной отгонкой с этанолом азид (XXII) очищали препаративной хроматографией на двух пластинах (28×18 см) с кизельгелем (толщина слоя 0,5 мм) в системе Г. Полосу с  $R_f$  0,3 элюировали абс. этанолом. Спиртовой элюат упаривали, вещество кристаллизовали из метанола. Выход 129 мг, ВЭЖХ, время удерживания 16,2 мин.

*3'-Азидо-2',3'-дидезоксинуклеозид-5'-монофосфаты (XXIII а-г)*. К охлажденному до 0° С раствору 0,3 ммоль 3'-азидо-2',3'-дидезоксинуклеозидов (III), (VI), (VII) или (XVIII) в 5 мл триэтилфосфата прибавляли 0,1 мл  $\text{POCl}_3$  в 3 мл триэтилфосфата, смесь оставляли при 4° С на 4 ч. Нейтрализовали насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  и смесь экстрагировали бензолом (2×30 мл) и эфиром (2×50 мл). Водный слой разбавляли до 150 мл и наносили на колонку (20×2,5 см) с сефадексом А-25 ( $\text{HCO}_3^-$ ). Вещества элюировали буфером ТЕАВ (линейный градиент 0–0,2 М, общий объем 2 л). Фракции, элюирующиеся при концентрации буфера 0,12–0,17 М, упаривали, триэтиламмонийбикарбонат удаляли многократным упариванием с этанолом, получали соединения (XXIII а–г). Выход, физико-химические данные и данные ПМР см. в табл. 2 и 4.

*3'-Азидо-2',3'-дидезоксинуклеозид-5'-трифосфаты (XXIV а-г)*. Растворяли 0,1 ммоль монофосфатов (XXIII а–г) в виде три-*n*-бутиламмониевой соли в 3 мл DMF, прибавляли 0,5 ммоль  $\text{N,N}'$ -карбонилдимидазола, через 1 ч вносили 0,1 мл метанола, перемешивали 10 мин и отгоняли метанол. К остатку прибавляли 2,5 мл 0,2 М раствора бис-три-*n*-бутиламмониевой соли пирофосфорной кислоты в DMF. Перемешивали 4 ч при 20° С. Осадок отфильтровывали, промывали 10 мл DMF и раствор упаривали. Остаток растворяли в 100 мл 0,1 М ТЕАВ и наносили на колонку (20×3 см) с сефадексом А-25 ( $\text{HCO}_3^-$ ). Вещества элюировали линейным градиентом ТЕАВ (0,1–0,5 М, общий объем 2 л). Фракции, элюируемые при 0,35–0,45 М ТЕАВ, собирали. Триэтиламмонийбикарбонат удаляли многократным упариванием с этанолом. Выход и физико-химические данные соединений (XXIV а–г) приведены в табл. 2 и 4. ВЭЖХ, время удерживания (XXIVа) – 17,0 (XXIVб) – 16,0, (XXIVв) – 14,5, (XXIVг) – 6,5 мин.

*3' - Амино - 2',3' - дидезоксинуклеозид - 5' - трифосфаты (XXV а-г)*. 0,05 ммоль трифосфатов (XXIV а–г) растворяли в 3 мл смеси диоксан – вода (2 : 1) и прибавляли 131 мг (0,5 ммоль) трифенилфосфина. Перемешивали 30 ч при 24° С и упаривали досуха. Остаток растворяли в 20 мл воды и экстрагировали эфиром (3×10 мл). Водный слой разбавляли до 100 мл и наносили на колонку (9×2 см) с сефадексом А-25 ( $\text{HCO}_3^-$ ). Вещество элюировали линейным градиентом ТЕАВ (0,1–0,5 м, общий объем 0,5 л). Собирали фракции, элюирующиеся при концентрации буфера 0,35–0,45 М. После упаривания и удаления триэтиламмонийбикарбоната описанным выше способом получили трифосфаты (XXV а–г). Выход и физико-химические данные см. в табл. 2, 4.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Зайцева В. Е., Скапцова Н. В., Ажаев А. В., Краевский А. А. Биоорг. химия, 1984, т. 10, № 3, с. 401–407.
2. Azharyev A. V., Ozols A. M., Bushnev A. S., Dyatkina N. B., Kochetkova S. V., Kuchanova M. K., Kravetsky A. A., Gottikh B. P. Nucl. Acids Res., 1979, v. 6, № 2, p. 625–643.
3. Kutateladze T., Beabealashvili R., Azharyev A., Kravetsky A. FEBS Lett., 1983, v. 153, № 2, p. 420–426.
4. Fox J. J., Miller N. C. J. Org. Chem., 1963, v. 28, № 3, p. 936–941.

5. Kowollik G., Gaertner K., Langen P. *Tetrahedron Lett.*, 1969, № 44, p. 3863-3865.
6. Hortwitz J. P., Chua J., Noel M. *J. Org. Chem.*, 1964, v. 29, № 7, p. 2076-2081.
7. Glinski R. P., Kham M. S., Kalamas R. L. *J. Org. Chem.*, 1973, v. 38, № 25, p. 4299-4312.
8. Imezawa M., Eckstein F. *J. Org. Chem.*, 1978, v. 43, № 15, p. 3044-3048.
9. Lin T.-S., Mancini W. R. *J. Med. Chem.*, 1983, v. 26, № 4, p. 544-548.
10. Krenitsky T. A., Freeman G. A., Shaver S. R., Beacham L. M., Hurlbert S., Cohn N. K., Elwell L. P., Selway J. W. T. *J. Med. Chem.*, 1983, v. 26, № 8, p. 891-895.
11. Chedgeavadze Z. G., Beabealashvili R. Sh., Atrazhev A. M., Kukhanova M. K., Azhayev A. V., Krayevsky A. A. *Nucl. Acids Res.*, 1984, v. 12, № 3, p. 1671-1686.

Поступила в редакцию  
4.X.1983

## AMINONUCLEOSIDES AND THEIR DERIVATIVES. XI. SYNTHESIS OF 3'-AMINO-2', 3'-DIDEOXYNUCLEOSIDE 5'-TRIPHOSPHATES

ZAITSEVA V. E., DYATKINA N. B., KRAYEVSKY A. A.,  
SKAPTSOVA N. V., TURINA O. V., GNUCHEV N. V.,  
GOTIUKH B. P., AZHAYEV A. V.

*Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

3'-Azido-2',3'-dideoxynucleosides with thymine, adenine and guanine bases were synthesized by means of some modifications of the methods described in literature. To synthesize the compounds of this kind with cytosine and uracyl bases, new methods were elaborated. 3'-Azido-2',3'-dideoxycytidine was prepared from 2'-deoxycytidine via 3',0<sup>2</sup>-anhydro derivatives by ring opening by LiN<sub>3</sub>. The synthesis of 3'-azido-2',3'-dideoxyuridine was accomplished from 2'-deoxyuridine by a similar method. Starting from 3'-azido-2',3'-dideoxynucleosides, their 5'-monophosphates and triphosphates were synthesized and the latter were reduced into 3'-amino-2',3'-dideoxynucleoside 5'-triphosphates. These compounds were found to be effective inhibitors of the DNA synthesis catalyzed by different DNA polymerases.