



УДК 547.963.32.057

СИНТЕЗ И АНТИМЕТАБОЛИТНЫЕ СВОЙСТВА
5-ЗАМЕЩЕННЫХ 2'-ДЕЗОКСИУРИДИНОВ.
АНОМЕРНЫЕ 5-(2-АМИНОГЕКСАФТОРПРОП-2-ИЛ)-
И 5-(2-ТРИФТОРАЦЕТИЛАМИНОГЕКСАФТОРПРОП-2-ИЛ)-
2'-ДЕЗОКСИУРИДИНЫ

Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Ярцева И. В.,
Жочеткова М. В., Преображенская М. Н., Свиридов В. Д.*,
Чкаников Н. Д.*, Коломиец А. Ф.*, Фокин А. В.*

Всесоюзный онкологический научный центр
Академии медицинских наук СССР, Москва;

* Институт элементоорганических соединений им. А. И. Несмеянова
Академии наук СССР, Москва

Алкилированием 2,4-бис-О-(триметилсилил)урацила трифторацетиламином гексафторацетона получен 5-(2-трифторацетиламиногексафторпроп-2-ил)урацил, который превращен в 5-(2-аминогексафторпроп-2-ил)урацил. При его гликозилировании 3,5-ди-О-*n*-толуил-*D*-рибофуранозилхлоридом по методу Форбрюгена с последующим дезацилированием образуется преимущественно один аномер — 1-(2-дезоксид-*D*-рибофуранозил)-5-(2-аминогексафторпроп-2-ил)урацил. В подобных условиях из 5-(2-трифторацетиламиногексафторпроп-2-ил)урацила получен 5-(2-трифторацетиламиногексафторпроп-2-ил)-2'-дезоксуридин и его α -аномер, которые превращены в 1-(2-дезоксид-*D*-рибофуранозил)- и 1-(2-дезоксид- α -*D*-рибофуранозил)-5-(2-аминогексафторпроп-2-ил)урацил. Показано, что 1-(2-дезоксид-*D*-рибофуранозил)-5-(2-аминогексафторпроп-2-ил)урацил в концентрации 250 мг/мл ингибирует *in vitro* репликацию вируса осповакцины.

Продолжая исследования 5-замещенных 2'-дезоксуридинов в качестве потенциальных антиметаболитов с противоопухолевыми или противовирусными свойствами, мы осуществили синтез аналогов тимидина с разветвленным фторсодержащим заместителем при С5 пиримидинового цикла. Ранее было показано, что введение перфторизопропильной или 2-гидроксигексафторпроп-2-ильной группы в С5-положение 2'-дезоксуридина приводит к появлению у аналога цитотоксических (5-перфторизопропил-2'-дезоксуридин) [1] или противовирусных свойств [α -аномер 5-(2-гидроксигексафторпроп-2-ил)-2'-дезоксуридина] [2]. В настоящем сообщении описан синтез аномерных 5-(2-аминогексафторпроп-2-ил)- и 5-(2-трифторацетиламиногексафторпроп-2-ил)-2'-дезоксуридинов и представлены результаты по изучению их биологической активности.

Алкилирование урацила осуществляли взаимодействием его 2,4-бис-О-триметилсилильного производного с трифторацетиламином гексафторацетона с последующей обработкой метанолом. В полученном соединении (I) амидную группировку расщепляли 10% NaOH, в результате чего был получен 5-(2-аминогексафторпроп-2-ил)урацил (II) с выходом 79%. При его гликозилировании силильным методом ацилгалогенозой (III) в хлористом метиле в присутствии SnCl₄, по данным ТСХ, образуется только β -аномер (IV), выделенный кристаллизацией с выходом 60%. Правильность определения β -конфигурации соединения (IV) подтверждена данными КД- и ¹H-ЯМР-спектров продукта его дезацилирования (V).

Для получения α -аномера (X) мы изменили условия гликозилирования и в соответствии с рекомендациями работы [3] раствор ацилгалогенозой (III) в ацетонитриле выдерживали 1 ч перед прибавлением силильного производного, полученного из 5-замещенного урацила (II). Однако как в присутствии SnCl₄, так и без него через 48 ч реакционная смесь содержала незначительное (~10%) количество β -дезоксинуклео-

Данные УФ- и КД-спектров синтезированных соединений

Соединение	УФ-спектр		КД-спектр	
	λ_{max} , нм	ϵ , $M^{-1} \cdot cm^{-1}$	λ_{max} , нм	$[\theta]$, $град \cdot cm^2 \cdot M^{-1}$
V	263	9600	275	+9500
VII	269	9600	273	+11 600
IX	269	9600	271	-17 300
X	267	9800	270	-12 500

зида (IV), исходный урацил (II) и продукты деструкции ацилгалогенозы.

Искомый α -аномер (X) удалось получить, гликозилируя ацилгалогенозой (III) бис-О-триметилсилильное производное соединения (I) (а не (II)) в дихлорэтано без катализатора, что привело к смеси аномерных О-защитенных дезокси-нуклеозидов (VI) и (VIII). Дезацилирование углеводного остатка с последующим хроматографическим разделением привело к β - (VII) и α -аномеру (IX) в соотношении 1:2. Щелочным гидролизом удаляли N-трифторацетильную группу, при этом из нуклеозида (VII) получили соединение, идентичное β -дезоксирибозиду (V), а из нуклеозида (IX) — 1-(2-дезоксид-рибофуранозил)-5-(2-аминогексафторпроп-2-ил)урацил (X).

Синтезированные соединения охарактеризованы данными элементного анализа и совокупностью спектральных методов. Положение дезоксирибозного остатка в нуклеозидах (V), (VII), (IX), (X) подтверждено тем, что максимум поглощения в УФ-спектрах этих соединений не изменяется при переходе pH от 7 к 11. Отнесение конфигурации гликозидного центра в β -аномерах (V), (VII) и в α -аномерах (IX), (X) согласуется с данными спектров КД (табл. 1) и 1H -ЯМР (табл. 2). Наличие в масс-спектрах дезокси-нуклеозидов (VII) и (IX) пиков молекулярных ионов с m/z 489, а также в спектрах ^{19}F -ЯМР этих соединений сигнала с δ -2,1 м.д. (табл. 2) однозначно свидетельствует о сохранении после О-дезацилирования N-трифторацетильной группы. В спектрах ^{19}F -ЯМР β -дезоксинуклеозидов (V) и (VII) сигналы CF_3 -групп синглетны, для α -аномеров (IX) и (X) удается наблюдать магнитную неэквивалентность двух CF_3 -групп (рисунок).

Изучение цитотоксических и противовирусных свойств соединений (V), (VII), (IX), (X) *in vitro* показало, что β -дезоксинуклеозид (V) умеренно активен в отношении вируса осповакцины: в концентрации 250 мкг/мл он снижает титр вируса на $3 \lg$ ЦПД₅₀*; при исследовании на культуре клеток рака яичника человека CaOv соединение (X) проявило слабую цитотоксическую активность (CE₅₀ 100 мкг/мл).

Авторы выражают признательность Б. С. Кикотю и Ю. Ю. Володину за получение данных УФ- и КД-спектров, М. В. Галахову за съемку и помощь в интерпретации ^{19}F -ЯМР-спектров, С. С. Маренинковой и Э. В. Чекуновой за изучение противовирусных свойств, О. С. Жуковой и Я. В. Добрынину за исследование цитотоксического действия синтезированных соединений.

Экспериментальная часть

Спектры 1H -ЯМР соединений (I) и (II) получены на приборе Bruker WP-200 (ФРГ), остальных соединений — на приборе Bruker WH-360 (ФРГ), внутренний стандарт — тетраметилсилан. Спектры ^{19}F -ЯМР записаны на приборе Bruker WP-200 (ФРГ) с рабочей частотой 188,31 МГц, внешний стандарт — CF_3COOH ; теоретические параметры спектра дезокси-нуклеозида (X) получены итерационным машинным расчетом по стандартной программе «PANIC» до значения среднеквадратичной ошибки итерации 0,02 Гц. Масс-спектры записаны на приборе Varian MAT-311 A (США), энергия ионизации 80 эВ; УФ-спектры — на спектрофотометре Specord UV-VIS

* 50%-ная цитопатическая доза.

Соединение	¹ H							
	δ, м. д.							
	H6	III'	H2'a	H2'б	H3'	II4'	H5'a H5'б	NH
V 2*	8,15 с	6,14 т	2,21 м	2,04 м	4,21 м	3,85 м	3,50– 3,15 м	11,74 с
VII 3*	8,26 с	6,27 т	2,38 м	2,15 м	4,37 м	4,00 м	3,70 м	—
VII 2*	8,11 с	6,18 т	2,23 м	1,97 м	4,23 м	3,89 м	3,52 м	10,73 с; 11,70 с
IX 3*	8,24 с	6,24 дд	2,67 м	2,07 м	4,34 м	4,28 м	3,56 м	—
IX 2*	8,15 с	6,14 дд	2,58 м	1,87 м	4,21 м	4,12 м	3,45– 3,15 м	10,69 с; 11,58 с
X 3*	8,24 с	6,18 дд	2,63 м	2,09 м	4,33 м	4,30 м	3,56 м	—

* Спектры ¹⁹F-ЯМР соединений (V) и (VII) в DMSO, соединений (IX) и (X) — в MeOH.

2* Спектр ¹H-ЯМР в DMSO-d₆.

3* Спектр ¹H-ЯМР в CD₃OD.

4* Система A₃B₃ (см. рисунок).

(ГДР), длина оптического пути 1 см, растворитель — этанол. Круговой дихроизм измеряли на дихрографе Rousell-Jouan III (Франция) в этаноле в 1-см кювете. Для ТСХ использовали силуфол UV₂₅₄ (Kavalier, ЧССР), препаративную хроматографию проводили на пластинках (20×20 см), используя силикагель LSL₂₅₄ 5–40 мкм (Chemarol, ЧССР) при толщине слоя 1 мм; для колоночной хроматографии применяли силикагель L 40–100 мкм (Chemarol, ЧССР). Противовирусную активность дезоксициклозидов изучали in vitro на культуре клеток куриных фибробластов, инфицированных вирусом простого герпеса HSV-1 или вирусом осповакцины, как описано в работе [4]. Цитотоксическое действие синтезированных соединений исследовали на культуре клеток рака яичника человека CaOv по методике [5].

5-(2-Трифторацетиламиногексафторпроп-2-ил)урацил (I). Смесь 3,84 г 2,4-бис-О-(триметилсилил)урацила и 5,2 г трифторацетилимина гексафторацетона в 10 мл абс. CHCl₃ нагревали 24 ч в запаянной стеклянной ампуле при 90° С, после охлаждения упарили, добавили 50 мл метанола, осадок отделили и перекристаллизовали из этилацетата. Получили 3,64 г (65%) вещества (I), т.пл. 285° С, R_f 0,81 (метилэтилкетон — CCl₄, 1:1). ¹H-ЯМР (δ, м.д., DMSO-d₆): 7,50 (1H, H6), 10,80; 11,40; 11,49 (3H, NH). ¹⁹F-ЯМР (DMSO, δ, м.д.): -10,6, -6,6 (3CF₃, 2:1). Масс-спектр: M⁺ 373. Найдено, %: С 29,35; Н 1,20; N 11,35. C₉H₄F₉N₃O₃. Вычислено, %: С 28,95; Н 1,07; N 11,26.

5-(2-Аминогексафторпроп-2-ил)урацил (II). Кипятили 2 г соединения (I) в 40 мл 10% NaOH в течение 8 ч, нейтрализовали 10% HCl и выпавший осадок кристаллизовали из ацетонитрила. Выход соединения (II) 1,16 г (79%), т.пл. 295° С, R_f 0,68 (метилэтилкетон — CCl₄, 1:1). ¹H-ЯМР (ацетон-d₆, δ, м.д.): 3,66 (2H, NH₂), 7,83 (1H, H6), 10,33 (2H, NH). ¹⁹F-ЯМР (ацетон, δ, м.д.): -3,9 (2CF₃). Масс-спектр: M⁺ 277. Найдено, %: С 30,54; Н 1,77; N 14,57. C₇H₅F₆N₃O₂. Вычислено, %: С 30,32; Н 1,80; N 15,16.

1-(2-Дезокси-β-D-рибофуранозил)-5-(2-аминогексафторпроп-2-ил)урацил (V). а) Смесь 1,5 г (5,4 ммоль) 4-(2-аминогексафторпроп-2-ил)урацила (II), 1 мг сульфата аммония и 18 мл гексаметилдисилазана кипятили 12 ч. Избыток гексаметилдисилазана отогнали в вакууме, остаток растворили в 15 мл хлористого метилена, к раствору прибавили 1,89 г (4,86 ммоль) 2-дезоксид-3,5-ди-О-п-толуил-α-D-рибофуранозилхлорида (III) [6] и 0,17 мл SnCl₄ в 15 мл хлористого метилена. Реакционную смесь перемешивали 4 ч при 20–22° С, затем промыли последовательно насыщен. NaHCO₃, водой, высушили сульфатом магния, упарили в вакууме, остаток кристаллизовали из метанола. Получили 1,27 г 1-(2-дезоксид-3,5-ди-О-п-толуол-β-D-рибофуранозил)-5-(2-аминогексафторпроп-2-ил)урацила (IV). Из маточного раствора дополнительно выделили 0,6 г защищенного дезоксициклозида (IV), общий выход 60%. Вещество

синтезированных соединений

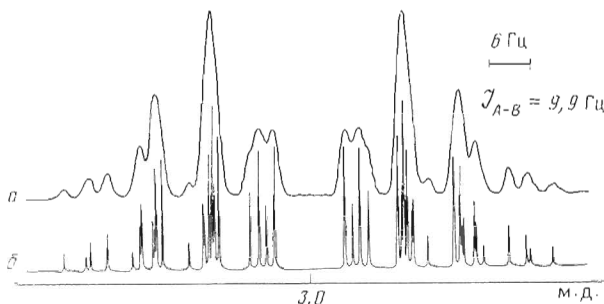
H						¹⁹ F *
J, Гц						δ, м. д.
1'2'a	1'2'б	2'a2'б	2'a3'	2'б3'	3'4'	CF ₃
5,9	7,2	13,1	2,8	5,7	2,6	-4,8 с
6,0	7,2	13,5	2,7	6,0	1,7	-8,5 с, -2,1 с (2 : 1)
—	—	—	—	—	—	—
7,5	1,5	14,8	5,5	1,5	1,3	-8,4, -8,6 **; -2,1 с (1 : 1 : 1)
—	—	—	—	—	—	—
7,3	1,5	14,7	5,4	—	—	-2,9; -3,1 (1 : 1)

хроматографически однородно в системе CCl₄ — ацетон (4 : 1). Найдено, %: С 53,31; Н 4,23; N 6,54. C₂₈H₂₅F₆N₃O₇. Вычислено, %: С 53,42; Н 4,00; N 6,66.

Раствор 1,27 г соединения (IV) в 50 мл 0,1 М MeONa в метаноле выдерживали 4 ч при 20–22° С, нейтрализовали дауэксом-50 (H⁺) до рН 7, смолу отделили, промыли метанолом и объединенные фильтраты упарили в вакууме. Остаток растворили в воде, метилтолуилат проэкстрагировали петролейным эфиром. Водный раствор упарили в вакууме, получили 0,65 г (82%) 1-(2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)-5-(2-аминогексафторпроп-2-ил)урацила (V). Найдено, %: С 36,86; Н 3,86; N 10,70. C₁₂H₁₃F₆N₃O₅. Вычислено, %: С 36,65; Н 3,33; N 10,89.

б) Раствор 1,2 г (3,09 ммоль) 2-дезоксид-3,5-ди-О-п-толуил-α-D-рибофуранозилхлорида (III) в 10 мл безводного ацетонитрила выдержали 1 ч при 20–22° С и прибавили к раствору бистриметилсилильного производного, полученного из 1,0 г (3,61 ммоль) 5-(2-аминогексафторпроп-2-ил)урацила (II) как описано выше, в 10 мл ацетонитрила. Через 24 ч к реакционной смеси прибавили 0,1 мл SnCl₄ и оставили на 48 ч при 20–22° С. Растворитель упарили в вакууме, остаток растворили в 20 мл хлороформа и промыли последовательно насыщ. NaHCO₃ (2×10 мл) и водой. После отгонки растворителя остаток (0,7 г) хроматографировали на пластинках с силикагелем в смеси CCl₄ — ацетон (4 : 1). Выделили 0,22 г (11%) защищенного β-аномера (IV), из которого после дезацилирования в условиях опыта (а) получили 0,1 г (80%) дезоксиинуклеозид, идентичного, по данным ТСХ, соединению (V).

Аномерные 5-(2-трифторацетиламиногексафторпроп-2-ил)-2'-дезоксидсуридин (VII) и (IX). Смесь 1,0 г (2,68 ммоль) 5-(2-трифторацетиламинопроп-2-ил)урацила (I), 10 мг сульфата аммония и 12 мл гексаметилдисилазана кипятили 10 ч, избыток силилирующего реагента отогнали в вакууме, остаток растворили в 4 мл безводного дихлорэтана и прибавили к суспензии 0,95 г (2,45 ммоль) ацилгалогенозы (III) в 8 мл того же растворителя. Реакционную смесь перемешивали 2,5 ч при 20–22° С, затем промыли последовательно раствором NaHCO₃ (2×10 мл), водой. После отгонки растворителя остаток (1,9 г) нанесли на колонку со 120 г силикагеля, хлороформом элюировали 1,65 г смеси защищенных аномеров (VI) и (VIII). Растворили 1,65 г этой смеси в 40 мл 0,1 н. MeONa в метаноле, через 4 ч нейтрализовали дауэксом-50 (H⁺). После отделения смолы и упаривания остаток высушили в вакууме над P₂O₅ и хроматографировали на пластинках с силикагелем в этилацетате. Из верхней зоны выделили 0,23 г (20%) 1-(2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)-5-(2-трифторацетиламинопроп-2-ил)урацила (VII). Найдено, %: С 34,96; Н 3,20. C₁₄H₁₂F₉N₃O₆. Вычислено, %: С 34,37; Н 2,47.

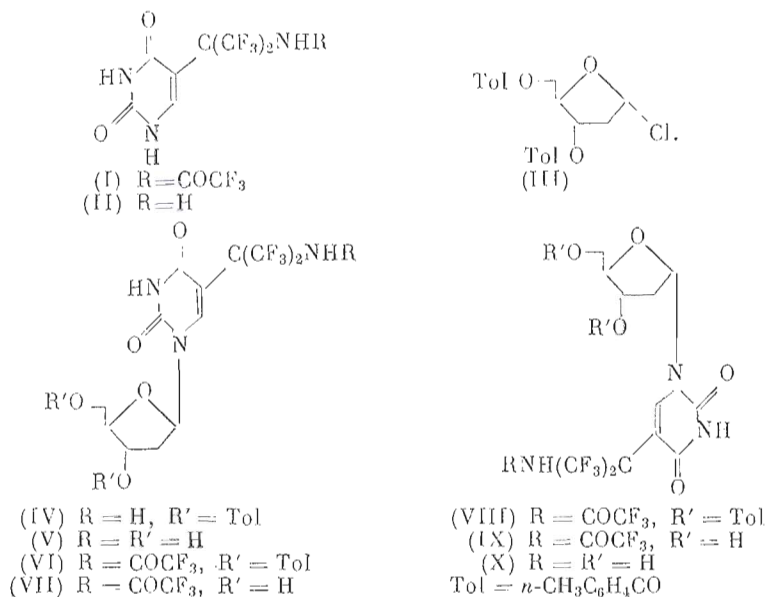


Система A_3B_3 в спектре ^{19}F -ЯМР соединения (X): а - эксперимент, б - теория

Из нижней зоны выделили 0,42 г (38%) 1-(2-дезоксид- α -D-рибофуранозил)-5-(2-трифторацетиламинопроп-2-ил)урацила (IX). Найдено, %: С 34,04; Н 3,60. $\text{C}_{14}\text{H}_{12}\text{F}_9\text{N}_3\text{O}_6$. Вычислено, %: С 34,37; Н 2,47.

1-(2-Дезокси- α -D-рибофуранозил)-5-(2-аминогексафторпроп-2-ил)урацил (X). Суспензию 0,39 г (0,8 ммоль) α -нуклеозида (IX) в 27 мл 10% водного NaOH кипятили 2,5 ч, нейтрализовали дауксом-50 (H^+), фильтраты упарили в вакууме и остаток (0,3 г) хроматографировали на пластинках с силикагелем в этилацетате. Выделили 0,14 г (44,5%) 1-(2-дезоксид- α -D-рибофуранозил)-5-(2-аминогексафторпроп-2-ил)урацила (X). Найдено, %: С 37,15; Н 3,78; N 10,70. $\text{C}_{12}\text{H}_{13}\text{F}_6\text{N}_3\text{O}_5$. Вычислено, %: С 36,65; Н 3,33; N 10,69.

В аналогичных условиях из соединения (VII) получили β -аномер, идентичный, по данным спектра ^1H -ЯМР и ТСХ, дезокси-нуклеозиду (V).



ЛИТЕРАТУРА

- Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Ярцева И. В., Недорезова Т. П., Ворновицкая Г. И., Преображенская М. Н., Герман Л. С., Полищук В. Р., Аветисян Э. А. // Биооргани. химия. 1981. Т. 7. № 11. С. 1711-1717.
- Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Недорезова Т. П., Ворновицкая Г. И., Преображенская М. Н., Аветисян Э. А., Герман Л. С., Полищук В. Р., Чекунова Э. В., Бектемиров Т. А., Анджапаридзе О. Г. // Биооргани. химия. 1981. Т. 7. № 7. С. 1047-1053.
- Hubbard A. J., Jones A. S., Walker R. T. // Nucl. Acids Res. 1984. V. 12. № 17. P. 6827-6837.
- Бектемиров Т. А., Чекунова Э. В., Анджапаридзе О. Г., Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Преображенская М. Н. // Вопр. вирусологии. 1979. № 6. С. 603-606.

5. Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Недорезова Т. П., Ярцева И. В., Жукова О. Е., Добрынин Я. В., Преображенская М. Н., Колесников С. П., Ли В. Я., Рогожин И. С., Нефедов О. М., Чекунова Э. В., Маренишкова С. С. // Бюллетень химии. 1985. Т. 11. № 9. С. 1248-1252.
6. Hoffer M. // Chem. Ber. 1960. B. 93. № 8. S. 2477-2481.

Поступила в редакцию
10.XI.1986

SYNTHESIS AND ANTIMETABOLITE PROPERTIES
OF 5-SUBSTITUTED 2'-DEOXYURIDINES.
ANOMERIC 5-(2-AMINOHEXAFLUOROPROP-2-YL)- AND
5-(2-TRIFLUOROACETYLAMINOHEXAFLUOROPROP-2-YL)-
2'-DEOXYURIDINE

MELNIK S. YA., BAKHMEDOVA A. A., YARTSEVA I. V., KOCHETKOVA M. V.,
PREOBRAZHENSKAYA M. N., SVIRIDOV V. D.*, CHKANIKOV N. D.*,
KOLOMIETS A. F.*, FOKIN A. V.*

All-Union Cancer Research Centre, Academy of Medical Sciences
of the USSR, Moscow;

*A. N. Nesmeyanov Institute of Elemento-Organic Compounds
Academy of Sciences of the USSR, Moscow

Alkylation of 2,4-bis-O-(trimethylsilyl)uracil with hexafluoroacetone trifluoroacetylamine gave 5-(2-trifluoroacetylaminohexafluoroprop-2-yl)uracil, which was transformed by alkaline hydrolysis to 5-(2-aminohexafluoroprop-2-yl)uracil. The latter was glycosylated with 2-deoxy-3,5-di-O-*p*-toluoyl- α -D-ribofuranosyl chloride by means of various modifications of the silyl method leading to the predominant formation of β -deoxynucleoside; after deacylation 1-(2-deoxy- β -D-ribofuranosyl)-5-(2-aminohexafluoroprop-2-yl)uracil was obtained. Interaction of silylated 5-(2-trifluoroacetylaminohexafluoroprop-2-yl)uracil with acylgalactonose gave anomeric O-substituted deoxynucleosides, which were deblocked to give 5-(2-trifluoroacetylaminohexafluoroprop-2-yl)-2'-deoxyuridine and corresponding α -anomer. Alkaline hydrolysis of N-trifluoroacetyl group in both individual anomers produced 1-(2-deoxy- α -D-ribofuranosyl)-5-(2-aminohexafluoroprop-2-yl)uracil and the abovementioned β -anomer. Of all compounds synthesised only 1-(2-deoxy- β -D-ribofuranosyl)-5-(2-aminohexafluoroprop-2-yl)uracil has a moderate inhibitory effect on replication of vaccinia virus in vitro.