



УДК 547.854'455.5.057

© 1994 В. И. Кобылинская, А. С. Шаламай,
В. А. Гладкая, В. Л. Макитрук, И. В. Кондратюк

СИНТЕЗ ФТОР- И АЗИДОПРОИЗВОДНЫХ ПУРИНОВЫХ
НУКЛЕОЗИДОВ ПРИ ИСПОЛЬЗОВАНИИ ИСХОДНЫХ
2',3'-ЦИКЛОСУЛЬФАТОВ НУКЛЕОЗИДОВ

Институт молекулярной биологии и генетики АН Украины, Киев

Ключевые слова: циклосульфаты нуклеозидов, фтор- и азидозамещенные нуклеозиды, нуклеофильное замещение.

При взаимодействии 5'-О-бензоилзащищенного инозина и N⁶,5'-О-добензоилзащищенного аденозина с хлористым сульфурилом получены их 2',3'-циклосульфоэфирные производные, которые в реакциях замещения с тетрабутиламмонийфторидом и азидом лития были превращены в 3'-фтор- и 3'-азидозамещенные 3'-дезоксинуклеозиды. Структура синтезированных 3'-фтор-(азидо)-3'-дезоксисилофуранозида гипоксантина и аденина, а также 2'-фтор-2'-дезоксикарабинофуранозида аденина доказана с помощью ¹H- и ¹⁹F-ЯМР-спектров.

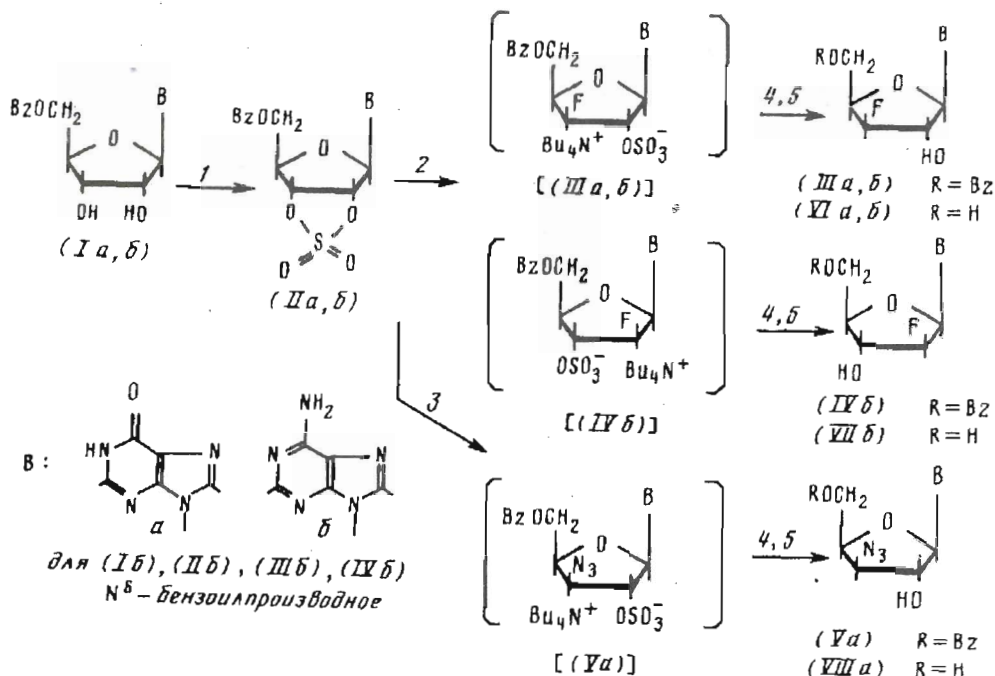
Синтезы замещенных 2',3'-дидезоксинуклеозидов, в том числе анти-ВИЧ-активных препаратов [1, 2], чаще всего основаны на методах введения атома фтора или азидогруппы в нуклеозид или в исходный защищенный углевод (предварительно активируются 2'- или 3'-положения фуранозы путем образования алкан-, перфторалкан- или арилсульфонатных эфиров [3, 4]). При наличии 2',3'-*цис*-диольных групп в рибонуклеозидах становится возможным одновременное активирование этих положений благодаря получению 2',3'-циклосульфоксидных или 2',3'-циклосульфонатных производных [5, 6].

В отличие от циклосульфоксидов 2',3'-циклосульфоэфиры нуклеозидов как исходные активные синтоны в реакциях замещения практически не изучались. Реакционная способность циклосульфатов некоторых углеводов и диолов ранее была изучена на примерах взаимодействия с различными нуклеофильными реагентами [7—9].

Целью настоящей работы стало изучение реакции замещения 2',3'-циклосульфатной группировки пуриновых рибонуклеозидов на фтор- или азидогруппу.

Ранее было показано, что реакции незащищенных нуклеозидов с 3—9-кратными избытками хлористого сульфурила в присутствии пиридина или триэтиламина оканчиваются образованием сложной смеси веществ, среди которых основными были 5,5'-дихлор-О²,2'-циклопроизводные пиримидиновых или 5'-хлор-2',3'-циклосульфатов и 3'-сульфатов N³,5'-циклопроизводных пуриновых нуклеозидов [6, 10].

2',3'-Циклосульфоэфиры пуриновых нуклеозидов 5'-О-бензоилзащищенных инозина (Ia) и N⁶,5'-О-дизащищенных аденозина (Iб) были синтезированы при взаимодействии нуклеозидов и четырехкратного избытка хлористого сульфурила в присутствии триэтиламина. Бензоилированные рибонуклеозиды были получены



1) SO_2Cl_2/NEt_3 ; 2) NBu_4F/DMF ; 3) LiN_3/DMF ; 4) $HCl/EtOH$; 5) $NaOEt/EtOH$

известными способами [11, 12] после предварительного блокирования 2'- и 3'-гидроксильных групп изопропилиденовой защитной группировкой.

Строение циклических сульфатов (IIa) и (IIб) подтверждено данными 1H -ЯМР-спектров, в которых сигналы протонов углеводной части $H1'$, $H2'$ и $H3'$ вследствие значительного дезэкранирующего влияния сульфатоэфирной группировки были смещены в более слабое поле (6,70—6,00 м. д.), чем сигналы идентичных протонов в исходных нуклеозидах (6,00 и 4,50—4,70 м. д. соответственно).

Попытки получить аналогичным образом циклосульфаты защищенных пиримидиновых и 6-азапиримидиновых нуклеозидов оканчивались образованием смеси $O^2,2'$ -циклопроизводных и их 3'-сульфатов. Такой механизм реакции подтверждал изначальное образование 2'-моно- и 2',3'-циклосульфатов, которые в силу особенностей строения пиримидиновых нуклеозидов *in situ* претерпевали $O^2,2'$ -внутримолекулярную циклизацию.

Реакции замещения циклосульфатного остатка мы изучали на примерах взаимодействия соединения (IIa) или (IIб) с тетрабутиламмонийфторидом или азидом лития. В образовавшихся фтор- и азидозамещенных 2'-сульфатах [(IIIa, б)], [(IVб)] и [(Va)] отщепление сульфатных остатков осуществляли обработкой их спиртовыми растворами хлористого водорода или серной кислоты. Продукты реакции: 5'-О-бензоил-3'-фторзамещенный инозин (IIIa), $N^6,5'$ -О-дibenzoил-3'-фторзамещенный аденозин (IIIб), его изомерное производное (IVб) и 3'-азидозамещенный инозин (Va) — были выделены с помощью колоночной хроматографии.

При высокой электрофильности циклического сульфата в соединениях (IIa) и (IIб) нуклеофильное замещение протекает по одному из наиболее активных атомов фуранозы. По данным 1H -ЯМР-спектров, полученные фтор- и азидопродукты (IIIa, б) и (Va) являются 3'-ксилозидами, тогда как соединение (IVб) было идентифицировано как 2'-фторарабинонуклеозид и его спектральные характеристики соответствовали ранее описанному соединению [13]. В 1H -ЯМР-

спектрах (IIIa, б), (IVб) и (Va) и их дезацелированных производных (VIa, б), (VIIб), (VIIIa) отнесение сигналов протонов при углеводных циклах проводилось с учетом электроотрицательности, дезэкранирующего влияния заместителей, величин КССВ атомов и в сравнении с ¹H-ЯМР-спектрами описанных фтор-, азидо-3'-рибо- и 2'-арабинопроизводных гипоксантина и аденина [11—13].

Из ЯМР-спектров синтезированных соединений следует, что направленность нуклеофильного замещения по 3'-положению фуранозного цикла в 2',3'-цикросульфатах инозина и аденозина, по-видимому, связана с перераспределением электронной плотности на С2'- и С3'-атомах углеводного остатка под влиянием электрооакцепторного пуринового гетероцикла. Заметный вклад при этом, возможно, вносит и экранирование 2'-положения фуранозы, наведенное электроотрицательным N3-атомом пуринового остатка.

Экспериментальная часть

В работе использовали инозин, аденозин (НПО «Биолар», Латвия). ТСХ проводили в системах хлороформ — этанол, 4:1 (А), 9:1 (Б) и *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 5:2:3 (В) на пластинах с силикагелем Kieselgel F₂₅₄ (Merck, ФРГ). Колоночную хроматографию выполняли на силикагеле Kieselgel G-60, используя для элюирования системы хлороформа с этанолом. Температуры плавления определяли на приборе Бозтиуса (ФРГ).

УФ-спектры снимали в этаноле на приборе Specord M-40 (ФРГ). Спектры ¹H- и ¹⁹F-ЯМР регистрировали в DMSO-*d*₆ на ЯМР-спектрометре VXR-300 (Varian, США) с рабочей частотой для ¹H 300 и для ¹⁹F 282,2 МГц. При записи ¹H- и ¹⁹F-ЯМР-спектров в качестве внутреннего стандарта использовали тетраметилсилан и внешний стандарт трифторуксусную кислоту (—76,56 м. д. относительно фреона) соответственно. В описаниях спектров приведены химические сдвиги (δ, м. д.) и константы спин-спинового расщепления (*J*) в герцах.

Данные элементных анализов на С, Н, N, F впервые синтезированных соединений (IIa, б), (IIIa, б), (Vб), (Va), (VIa, б), (VIIб), (VIIIa) были близкими к рассчитанным при отклонениях не более 0,3%.

2',3'-Циклосульфат 5'-О-бензоилинозина (IIa) и N⁶,5'-О-добензоиладенозина (IIб). К суспензии 10 ммоль 5'-О-бензоилинозина (Ia) или N⁶,5'-О-добензоиладенозина (Iб) в смеси 350 мл абсолютного ацетонитрила и 12 мл (80 ммоль) триэтиламина при перемешивании и охлаждении до —10° С в течение 2 ч по каплям добавляли раствор 3,24 мл (40 ммоль) свежеперегнанного хлористого сульфурила в 60 мл ацетонитрила. Затем охлаждение прекратили и через 30 мин раствор упарили в вакууме досуха.

Соединение (IIa) получали кристаллизацией остатка из водного этанола. Выход 3,81 г (87%). Т. пл. 224—226° С. *R*_f 0,42 (Б). ¹H-ЯМР-спектр: 12,50 уш. с (1H, N—H), 8,29с, 8,00с (2H, 2-Н, 8-Н), 7,90—7,40м (5H, аром. Н), 6,65д (1H, *J*_{1',2'} 3,2, 1'-Н), 6,49дд (1H, *J*_{2',1'} = *J*_{2',3'} = 3,0, 2'-Н), 6,18дд (1H, *J*_{3',2'} = *J*_{3',4'} = 4,4, 3'-Н), 4,85—4,97м (1H, 4'-Н), 4,50—4,74м (2H, 5'a, 5'b-Н).

Соединение (IIб) выделяли путем дополнительной отмывки водой хлороформного раствора полученного остатка и после упаривания растворителя продукт кристаллизовали из ацетонитрила. Выход 3,28 г (61%). Т. пл. 198—203° С, *R*_f 0,38 (Б). УФ-спектр: λ_{max} 283 нм (ε 25 300). ¹H-ЯМР-спектр: 8,12с, 8,04с (2H, 2-Н, 8-Н), 7,96—7,44м (10H, аром.Н), 6,72д (1H, *J*_{1',2'} 2,6, 1'-Н), 6,54дд (1H, *J*_{2',1'} = *J*_{2',3'} = 3,2, 2'-Н), 6,20дд (1H, *J*_{3',2'} = *J*_{3',4'} = 3,8, 3'-Н), 4,80—4,92м (1H, 4'-Н), 4,50—4,76м (2H, 5'a, 5'b-Н).

N⁶-(5'-О-Бензоил-3'-дезоксигуанозил)гипоксантин (IIIa), N⁶-(5'-О-бензоил-3'-дезоксигуанозил)-2'-фтор-β-D-ксилофуранозил (IIIб) и N⁶-(5'-О-бензоил-2'-дезоксигуанозил)-2'-фтор-β-D-арабинофуранозил)-N⁶-бензоиладенин (IVб). Раствор 5 ммоль циклосульфатов (IIa) или (IIб) и 2,4 г (7,5 ммоль) тетрабутиламмонийфторида в 20 мл диметилформамида нагревали 2 ч при

60° С. Растворитель упаривали в вакууме, соупаривали последовательно с толуолом (2 × 30 мл) и этанолом (2 × 20 мл), остаток растворяли в 2 мл 6% раствора хлористого водорода в этаноле и выдерживали 20 мин. Реакционную смесь нейтрализовали насыщенным раствором бикарбоната натрия и экстрагировали хлороформом (2 × 30 мл). Органический слой отделили и упарили досуха. В случае (IIIa) остаток кристаллизовали из этанола. Выход 0,99 г (50%). Т. пл. 239—241° С. R_f 0,77 (А). УФ-спектр: λ_{\max} 236 нм (ϵ 18 400). ^1H -ЯМР-спектр: 12,45 уш. с (1H, N¹-H), 8,16с, 8,11с (2H, 2-H, 8-H), 8,03—7,90м, 7,74—7,52м (5H, аром. H), 6,47 уш. с (1H, 2'-OH), 6,02д (1H, $J_{1,2}$ 2,4), 5,31д (1H, $J_{3,F}$ 52,6, 3'-H), 4,86—4,64м (4H, 2'-H, 4'-H, 5'a, 5'b-H). ^{19}F -ЯМР-спектр: 199,1ддд (1F, $J_{F,3}$ 52,6, $J_{F,2}$ 30,5, $J_{F,4}$ 16,5, 3'-F).

В случае производных (IIIб) и (IVб) целевые вещества выделяли колоночной хроматографией, продукты элюировали хлороформом (350 мл), а затем смесью хлороформ — этанол, 98 : 2 (400 мл).

Выход 3'-фторизомера (IIIб) 1,12 г (46%), R_f 0,18 (Б). УФ-спектр: λ_{\max} 283 нм (ϵ 20 300). ^1H -ЯМР-спектр: 11,20с (1H, N⁶-H), 8,76с, 8,53с (2H, 2-H, 8-H), 8,20—7,36м, 7,52—7,74м (1OH, аром. H), 6,51д (1H, $J_{1,2}$ 4,4), 6,17д (1H, $J_{2,\text{OH}}$ 2,6, 2'-OH), 5,34д (1H, $J_{3,F}$ 53,2, 3'-H), 5,08—4,43м (4H, 2'-H, 4'-H, 5',5''-H). ^{19}F -ЯМР: 199,8ддд (1F, $J_{F,3}$ 51,6, $J_{F,2}$ 27,4, $J_{F,4}$ 16,4, 3'-F).

Выход 2'-фторизомера (IVб) 0,18 г (4,8%). Т. пл. 107—108° С, R_f 0,11 (Б). УФ-спектр: λ_{\max} 282,5 нм (ϵ 21 350). ^1H -ЯМР-спектр: 11,30с (1H, N⁶-H), 8,77с, 8,52с (2H, 2-H, 8-H), 8,16—7,40м (1OH, аром. H), 6,65дд (1H, $J_{1,2}$ 4,6, $J_{1,F}$ 15,2, 1'-H), 6,24д (1H, $J_{\text{OH},3}$ 5,0, 3'-OH), 5,37ддд (1H, $J_{2,F}$ 52,6, $J_{2,1} = J_{2,3} = 4,2$, 2'-H), 4,98—4,48 м (3H, 3'-H, 5'a, 5'b-H), 4,18—4,12м (1H, 4'-H). ^{19}F -ЯМР-спектр: 197,3ддд (1F, $J_{F,2}$ 52,4, $J_{F,3}$ 24,6, $J_{F,1}$ 15,2, 2'-F).

N^9 -(3'-Азидо-3'-дезоксидеокси-5'-бензоил- β -D-ксилофуранозил)гипоксантин (Va). Раствор 4,34 г (10 ммоль) циклосульфата (IIa) и 0,98 г (20 ммоль) азида лития в 40 мл диметилформамида перемешивали 4 ч при 20° С. Затем упаривали в вакууме, соупаривали последовательно с толуолом (2 × 30 мл) и этанолом (2 × 30 мл), маслообразный остаток обрабатывали 5 мл 6% раствора хлористого водорода, через 20 мин реакционную массу нейтрализовали раствором бикарбоната аммония и экстрагировали хлороформом (3 × 50 мл). Органический слой упаривали досуха и остаток перекристаллизовывали из водного этанола. Выход (Va) 3,57 г (90%). Т. пл. 171—173° С, R_f 0,70 (А). УФ-спектр: λ_{\max} 235,7 нм (ϵ 17 500).

N^9 -(3'-Дезокси-3'-фтор- β -D-ксилофуранозид) гипоксантина (VIa) и аденина (VIб), N^9 -(2'-дезоксидеокси-2'-фтор- β -D-арабинофуранозид) аденина (VIIб), N^9 -(3'-азидо-3'-дезоксидеокси- β -D-ксилофуранозил)гипоксантин (VIIIa). К перемешиваемым суспензиям 8 ммоль бензоилзащищенных (IIIa, б), (IVб) или (Va) в 150 мл абсолютного этанола прибавляли 6 мл 1 н. раствора этилата натрия. Через 3 ч реакционные смеси упаривали, остатки растворяли в воде, экстрагировали смесью этилацетат — эфир, 2 : 1 (2 × 30 мл), а также хлороформом (2 × 25 мл). Водные слои обрабатывали смесью КУ-2 в H⁺-форме до pH 5, упаривали, остатки кристаллизовали из изопропанола. Выход (VIa) 70%. Т. пл. 187—190° С, R_f 0,27 (А). УФ-спектр: λ_{\max} 252 нм (ϵ 10 300). ^1H -ЯМР-спектр: 12,43 уш. с (1H, N¹-H), 8,09с, 8,04с (2H, 2-H, 8-H), 6,35 уш. с (1H, 2'-OH), 5,9д (1H, $J_{1,2}$ 2,4, 1'-H), 5,03д (1H, $J_{3,F}$ 51,6, 3'-H), 5,06т (1H, J 5,4, 5'-OH), 4,59д (1H, $J_{4,F}$ 14,1, 4'-H), 4,32д (1H, $J_{2,F}$ 29,1, 2'-H). ^{19}F -ЯМР: 200,31ддд (F, $J_{F,3}$ 51,9, $J_{F,2}$ 28,8, $J_{F,4}$ 14,4).

Выход (VIб) 70%. Т. пл. 218° С, R_f 0,63 (Б). УФ-спектр: λ_{\max} 262 нм (ϵ 13 090). ^1H -ЯМР-спектр: 8,09с (2H, H-2, H-8), 7,34с (2H, N⁶-H), 6,32 уш. с (1H, 2'-OH), 5,94д (1H, $J_{1,2}$ 2,4, 1'-H), 5,09ддд (1H, $J_{3,F}$ 52,8, $J_{3,2}$ 1,8, $J_{3,4}$ 1,5, 3'-H), 5,10 уш. д (1H, 5'-OH), 4,75 уш. д (1H, $J_{4,F}$ 15,9, 4'-H), 4,31 уш. д (1H

$J_{2',F}$ 28,2, 2'-H), 3,74м (2H, 5'a, 5'b-H). ^{19}F -ЯМР: 200,53ддд (F, $J_{F,3'}$ 52,2, $J_{F,2'}$ 28,2, $J_{F,4'}$ 12,7, 3'-F).

Выход 2'-изомера (VIIб) 59%. Т. пл. 234—235° С, R_f 0,63 (В). УФ-спектр: λ_{max} 261 нм (ϵ 14 170). 1H -ЯМР-спектр: 8,24с, 8,19с (2H, 2-H, 8-H), 7,35с (2H, N⁶-H), 6,40дд (1H, $J_{1',F}$ 14,7, $J_{1',2'}$ 4,5, 1'-H), 5,96д (1H, $J_{HO,3'}$ 5,1, 3'-OH), 5,21ддд (1H, $J_{2',F}$ 49,8, $J_{2',1'}$ = $J_{2',3'}$ = 4,2, 2'-H), 5,11д (1H, J 3,9, 5'-OH), 4,45ддд (1H, $J_{3',F}$ 18,9, $J_{3',2'}$ = $J_{3',4'}$ = 4,2, 3'-H), 3,85м (1H, 4'-H), 3,66м (2H, 5'a, 5'b-H). ^{19}F -ЯМР: 197,54ддд (F, $J_{F,2'}$ 50,0, $J_{F,3'}$ 16,9, $J_{F,1'}$ 15,5, 2'-F).

Выход азидонуклеозида (VIIIа) 89%. Т. пл. 199—201° С, R_f 0,58 (В), УФ-спектр: λ_{max} 253 нм (ϵ 11 168).

1H -ЯМР-спектр: 12,43 уш. с (1H, N¹-H), 8,26с, 8,09с (2H, 2-H, 8-H), 6,24 уш. с (1H, 3'-OH), 5,83д (1H, $J_{1',2'}$ 4,8, 1'-H), 5,12 уш. с (1H, 5'-OH), 4,69т (1H, J 4,5, 3'-H), 4,39—4,30м (2H, 2'-H, 4'-H), 3,67—3,62м (2H, 5'a, 5'b-H).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Nasr M., Litterst C., McGowan J.//Antiviral Res. 1990. V. 14. № 2. P. 125—148.
2. Краевский А. А.//Хим.-фармацевт. журн. 1992. Т. 26. № 1. С. 27—37.
3. Moffatt J. C.//Nucleoside Analogues/Eds Walker R. T., De Clercq E., Eckstein F. Plenum Publ. Corp., 1979. P. 71—164.
4. Sasaki T., Minamoto K., Suzuki H.//J. Org. Chem. 1973. V. 38. № 8. P. 1283—1289.
5. Sowa T., Tsunoda T.//Bull. Chem. Soc. Jap. 1975. V. 48. № 3. P. 505—512.
6. Kikugawa K.//Chem. Pharm. Bull. 1977. V. 25. № 9. P. 2181—2188.
7. Teovson T. J.//J. Org. Chem. 1983. V. 48. № 20. P. 3507—3510.
8. Vanhessche K., Van der Eycken E., Vandewalle M., Rope H.//Tetrahedron Lett. 1990. V. 31. № 16. P. 2337—2340.
9. Gao J., Sharpless K. B.//J. Amer. Chem. Soc. 1988. V. 110. № 22. P. 7538—7539.
10. Kikugawa K. B., Kawada I., Ichino M.//Chem. Pharm. Bull. 1975. V. 23. № 12. P. 3154—3161.
11. Пунейко Н. Е., Прикота Т. И., Сивец Г. Г. и др. 3'-Фтор-3'-дезоксирибонуклеозиды, проявляющие цитостатическую активность: А. с. 1500645 СССР//Б. И. 1989. № 30. С. 28.
12. Chu C. K., Ullas G. V., Jeong L. C. et al.//J. Med. Chem. 1990. V. 33. № 6. P. 1553—1561.
13. Herdewijn P., Van Aerschot A., Kerremans L.//Nucleosides and Nucleotides. 1989. V. 8. № 1. P. 65—96.

Поступила в редакцию
28.X.1993

После доработки
10.V.1994

V. I. Kobylinskaya, A. S. Shalamay, V. A. Gladkaya,
V. L. Makitruk, I. V. Kondratyuk

SYNTHESIS OF FLUORO AND AZIDO DERIVATIVES OF PURINE NUCLEOSIDES FROM NUCLEOSIDES 2', 3'-CYCLOSULPHATES

Institute of Molecular Biology and Genetics, Ukrainian Academy of Sciences, Kiev

Key words: nucleoside cyclosulphates, fluoro and 2',3'-azido derivatives of nucleosides, nucleophilic substitution.

2',3'-Cyclosulphate derivatives of inosine and adenosine were synthesized by the action of sulphuryl chloride on N,O-benzoyl nucleosides in the presence of triethylamine. Reactions of nucleophilic substitution of the sulphate group led to fluoro and azido derivatives of the nucleosides, which, according to the 1H - and ^{19}F -NMR spectra, are 3'-substituted 3'-deoxyxylofuranosides.