



УДК 547.854.4'455.466.057

## СИНТЕЗ ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ АНТИМЕТАБОЛИТОВ В РЯДУ МОДИФИЦИРОВАННЫХ ПО УГЛЕВОДУ ПИРИМИДИНОВЫХ 2'-ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИДОВ

© 1995 г. А. А. Бахмедова, И. В. Ярцева, С. Я. Мельник\*

Онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, Москва, 115478, Каширское шоссе, 24  
Поступила в редакцию 25.02.94 г.

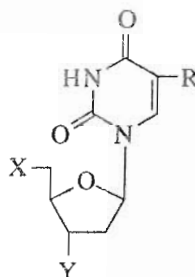
Взаимодействием 3'-амино-2',3'-дидезокси- или 5'-амино-2',5'-дидезокси-5-замещенных пириимидиновых нуклеозидов с N-этилмалеимидом в DMF в присутствии триэтиламина получены диастереомерные 2',3'-дидезокси-3'-(N'-этилсукцинимидо)- или 2',5'-дидезокси-5'-(N'-этилсукцинимидо)-аминонуклеозиды. В случае 5-триметилсилил- и 5-бензилоксиметил-2'-дезоксинуридина диастереомерные 3'-(N'-этилсукцинимидо)аминопроизводные разделены препаративной ТСХ. Структура синтезированных соединений подтверждена данными УФ-, ИК- и <sup>1</sup>H-ЯМР-спектров. Полученные модифицированные нуклеозиды не обладают цитотоксическими свойствами *in vitro* на культуре клеток СаОv.

**Ключевые слова:** нуклеозиды, 3'- и 5'-модифицированные; N-этилмалеимид, диастереомеры, цитотоксические свойства.

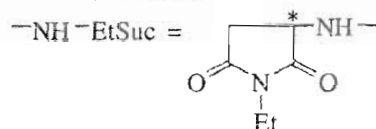
Модифицированные по углеводному остатку нуклеозиды изучаются в качестве потенциальных противоопухолевых или противовирусных препаратов. Производные 2',3'-дидезоксинуклеозидов, по-видимому, наиболее перспективны как ингибиторы репликации вируса иммунодефицита человека [1]. Продолжая исследования по синтезу пириимидиновых дезоксинуклеозидов, содержащих в углеводном остатке азидо-, amino- или морфолиногруппу [2], мы изучили взаимодействие 3'- и 5'-аминонуклеозидов с N-этилмалеимидом.

5'-Амино-2',5'-дидезокси-5-(триметилсилил)уридин (IV) и 5'-амино-5'-дезокситимидин (IX) синтезировали по стандартной схеме [3] через стадию образования 5'-О-тозилпроизводного, как описано в работе [4], с последующим превращением в 5'-азидо-2',5'-дидезокси-5-(триметилсилил)уридин (III) и каталитическим гидрированием последнего. О получении остальных аминоклеозидов, использованных в работе, упомянуто в "Экспериментальной части". Взаимодействие 3'- и 5'-аминопроизводных нуклеозидов с N-этилмалеимидом проводили в условиях, описанных для даунорубина [5]. Присоединение 3'- или 5'-аминогруппы нуклеозида по двойной связи N-этилмалеимида приводило к возникновению нового асимметрического центра и образованию двух диастереомеров. В случае нуклеозидов (VI) и (VII) диастереомеры (XI), (XII) и (XIII), (XIV) удалось разделить

хроматографией на силикагеле и выделить в индивидуальном состоянии.



- (I) R = SiMe<sub>3</sub>, X = Y = OH  
 (II) R = SiMe<sub>3</sub>, X = OTs, Y = OH  
 (III) R = SiMe<sub>3</sub>, X = N<sub>3</sub>, Y = OH  
 (IV) R = SiMe<sub>3</sub>, X = NH<sub>2</sub>, Y = OH  
 (V) R = SiMe<sub>3</sub>, X = OH, Y = N<sub>3</sub>  
 (VI) R = SiMe<sub>3</sub>, X = OH, Y = NH<sub>2</sub>  
 (VII) R = CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, X = OH, Y = NH<sub>2</sub>  
 (VIII) R = CH<sub>3</sub>, X = OH, Y = NH<sub>2</sub>  
 (IX) R = CH<sub>3</sub>, X = NH<sub>2</sub>, Y = OH  
 (X) R = SiMe<sub>3</sub>, X = NH-EtSuc, Y = OH  
 (XI), (XII) R = SiMe<sub>3</sub>, X = OH, Y = NH-EtSuc  
 (XIII), (XIV) R = CH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>, X = OH, Y = NH-EtSuc  
 (XV) R = CH<sub>3</sub>, X = OH, Y = NH-EtSuc  
 (XVI) R = CH<sub>3</sub>, X = NH-EtSuc, Y = OH



Структура синтезированных соединений изучена спектральными методами. В ИК-спектре нуклеозида (III) имеется полоса при 2100 см<sup>-1</sup>, свидетельствующая о наличии в молекуле азидогруппы и исчезающая при трансформации соединения (III) в аминоклеозид (IV). Данные УФ- и ИК-спектров соединений (II) - (VI) и (X) - (XVI)

\*Автор для переписки.

Таблица 1. Характеристики синтезированных соединений

Соединение	Выход, %	Формула	N, %		ИК-спектр $\nu$ , $\text{cm}^{-1}$	УФ-спектр	
			найдено	вычислено		$\lambda$ , нм	$\epsilon$ , $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$
II	35	$\text{C}_{19}\text{H}_{26}\text{N}_2\text{O}_6\text{SSi}$	6.51	6.39		265	10 420
III	65	$\text{C}_{12}\text{H}_{19}\text{N}_5\text{O}_4\text{Si}$	21.60	21.52	3390, 2110 1730, 1650	265	11 200
IV	87	$\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4\text{Si}$	13.72	14.04	3380, 1720 1675	265	6700
VI	96	$\text{C}_{12}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_4\text{Si}$	14.37	14.04	3400, 1700 1670	265	9200
X	64	$\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_6\text{Si}$	13.25	13.20	3420, 1716 1606	263	8000
XI	36	$\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_6\text{Si}$	13.18	13.20	3480, 1704 1607	266	10 200
XII	29	$\text{C}_{18}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_6\text{Si}$	13.07	13.20	3450, 1707 1608	266	10 700
XIII	23	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_7$	11.97	11.86	3440, 1700 1680	265	10 400
XIV	34	$\text{C}_{23}\text{H}_{28}\text{N}_4\text{O}_7$	11.92	11.86	3440, 1700 1680	265	10 400
XV	67	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_6$	15.46	15.29	3430, 1710 1690	267	9400
XVI	60	$\text{C}_{16}\text{H}_{22}\text{N}_4\text{O}_6$	15.43	15.29	3460, 1720 1680	266	9000

(табл. 1) свидетельствуют о том, что в ходе изученных превращений структура агликонов осталась не измененной. Данные спектров  $^1\text{H}$ -ЯМР (табл. 2) синтезированных соединений согласуются с предложенной для них структурой. Значительный сильнополюсный сдвиг сигналов протонов при C5' в соединении (IV) по сравнению с другими 5'-замещенными нуклеозидами обусловлен экранирующим влиянием первичной  $\text{NH}_2$ -группы, что характерно и для других аминонуклеозидов [2]. В  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектрах диастереомерных сукцинимидопроизводных (X), (XV) и (XVI) имеется двойной набор сигналов всех протонов, что подтверждается характером расщепления сигналов, а также соотношением их интегральных интенсивностей. Поскольку сигналы соответствующих протонов диастереомеров имеют совпадающие или близкие по величине химические сдвиги, выделение их в большинстве случаев затруднено.

При изучении цитотоксических свойств соединений *in vitro* показано, что соединения (X) - (XVI) в концентрации  $10^{-5}$  -  $10^{-4}$  М не влияют на включение тимидина в ДНК клеток карциномы яичника человека CaOv.

#### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры  $^1\text{H}$ -ЯМР синтезированных соединений записаны на приборе Bruker WH-360 (ФРГ),

внутренний стандарт – тетраметилсилан. УФ-спектры получены на спектрофотометре Specord UV-VIS (ФРГ), длина оптического пути 1 см, растворитель – этанол. ИК-спектры записаны на приборе Perkin-Elmer 283 (США) в таблетках с KBr. Для ТСХ использовали силуфол UV<sub>254</sub> (Kavalier, ЧР), препаративную хроматографию проводили на пластинках (20 × 20 см), используя силикагель LSL<sub>254</sub>, 5 - 40 мкм (Chemapol, ЧР) при толщине слоя 1 мм или на пластинках (20 × 20 см) (Merck, ФРГ) с закрепленным слоем силикагеля 60F<sub>254</sub>, толщина слоя 2 мм. Для хроматографии использовали смеси растворителей: хлороформ-метанол, 15 : 1 (А), 20 : 1 (Б), 10 : 1 (В). Синтез 3'-амино-2',3'-дидезокси-5-бензилоксиметилуридина (VII) и 3'-амино-3'-дезокситимидина (VIII) описан в работе [2]. В опытах использовали N-этилмалеимид (Sigma, США). Характеристики полученных соединений приведены в табл. 1. Цитотоксические свойства синтезированных нуклеозидов изучали на культуре клеток карциномы яичника человека CaOv по методике, описанной в работе [6].

**2'-Дезокси-5'-О-тозил-5-триметилсилилуридин (II).** К раствору 1.22 г (4.06 ммоль) 2'-дезокси-5-триметилсилилуридина (I) [7] в 8 мл безводного пиридина при перемешивании при 0°C прикпавляли раствор 0.97 г (5.09 ммоль) *n*-толуолсульфохлорида в 10 мл безводного пиридина. Реакционную смесь перемешивали 1 ч при 0°C и оставляли

Таблица 2. Данные спектров <sup>1</sup>H-ЯМР синтезированных соединений

Соединение	Химические сдвиги протонов, δ, м. д.									Растворитель	
	Пиримидиновый цикл		Углеводный цикл						Другие протоны		
	H6	NH3	H1'	H2'a	H2'б	H3'	H4'	H5'a	H5'б		
II	7.32		6.20	2.37	2.19	4.42	4.07	4.26	4.20	7.77, 7.36, 2.46 (Ts); 0.24 (SiMe <sub>3</sub> )	CDCl <sub>3</sub>
III	7.51	9.67	6.27	2.37	2.21	4.38	4.03	3.74	3.61	0.24 (SiMe <sub>3</sub> )	CDCl <sub>3</sub>
IV	7.43		6.14	2.12	2.28	4.21	3.80	2.89	2.80	0.17 (SiMe <sub>3</sub> )	DMSO-d <sub>6</sub>
VI	7.73		6.25	2.34 - 2.20		3.69	3.88	3.69 - 3.55		0.16 (SiMe <sub>3</sub> ); 5.16 (OH5')	DMSO-d <sub>6</sub>
X <sup>#</sup>	7.21	9.52	6.15	2.37		4.41	3.99	3.2 - 2.8*		3.82, *, 2.55 (Suc); 3.55, 1.16 (Et); 0.21 (SiMe <sub>3</sub> )	CDCl <sub>3</sub>
	7.20		6.13								
XI	7.51	9.25	6.15	2.49	2.29	3.67	3.83	3.81	3.94	3.83, 2.99, 2.51 (Suc); 3.56, 1.20 (Et); 0.20 (SiMe <sub>3</sub> )	CDCl <sub>3</sub>
XII	7.55	9.22	6.14	2.43	2.27		3.75 - 4.0*			*, 3.02, 2.52 (Suc); 3.56, 1.20 (Et); 0.22 (SiMe <sub>3</sub> )	CDCl <sub>3</sub>
XIII	7.81		6.11	2.36	2.23	3.69	3.70 - 3.66	3.92 - 3.66		7.40 - 7.25 (Ph); 4.59 (OCH <sub>2</sub> ); 4.31, 4.21 (CH <sub>2</sub> O); 3.85, 2.96, 2.47 (Suc); 3.54, 1.15 (Et)	CDCl <sub>3</sub>
XIV	7.83		6.15	2.40	2.28		3.90 - 3.70			7.40 - 7.25 (Ph); 4.60 (OCH <sub>2</sub> ); 4.31 (CH <sub>2</sub> O); 3.86, 2.95, 2.49 (Suc); 3.55, 1.15 (Et)	CDCl <sub>3</sub> + CD <sub>3</sub> OD
XV <sup>#</sup>	7.86		6.19	2.40 - 2.20		3.65	3.70 - 4.0*			*, 3.01, 2.47 (Suc); *, 2.99, 2.46 (Suc); 3.52, 1.14 (Et); 1.89 (CH <sub>3</sub> )	CD <sub>3</sub> OD + CDCl <sub>3</sub>
	7.84		6.17			3.74*					
XVI <sup>#</sup>	7.26	9.75	6.23	2.36 - 2.22		4.36	4.0	3.2 - 2.75*		3.85, *, 2.56 (Suc); 3.54, 1.16 (Et); 1.92, 1.90 (CH <sub>3</sub> )	CDCl <sub>3</sub>

<sup>#</sup> Два диастереомера.

\* Сигналы перекрываются.

Константы спин-спинового взаимодействия (J, Гц) протонов углеводного цикла

Соединение	1',2'a	1',2'б	2'a,2'б	3',2'a	3',2'б	4',3'	4',5'a	4',5'б	5'a,5'б
II	6.3	7.6	13.6	3.3	6.5	3.5	3.5	3.5	11.0
III	6.7	7.1	14.2	4.2	7.6	4.0	3.5	3.9	13.0
IV	7.1	7.1	13.7	4.3	7.2	3.0	4.9	7.0	13.3
VI	6.4	6.4							
X	7.2	7.2							
XI	4.9	7.2							
XIII*	5.4	6.4	14.5	8.7	6.4				
XIV*	6.8	5.0	13.7	5.9	5.0				
XVI	6.5			6.5					

\* КССВ протонов сукцинимидного остатка: (XIII) - <sup>3</sup>J 8.8, 6.0 Гц, J<sub>геМ</sub> 18.5 Гц; (XIV) - <sup>3</sup>J 8.4, 4.9 Гц, J<sub>геМ</sub> 17.8 Гц.

на 16 ч при 5 - 10°C, затем выливали в 50 мл смеси воды со льдом и экстрагировали хлороформом (2 × 20 мл). Хлороформный экстракт промывали последовательно насыщенным раствором KHSO<sub>4</sub> (3 × 15 мл), водой (2 × 10 мл). Растворитель удаляли в вакууме, тозилат (II) выделяли препаративной ТСХ в системе (Б). Т. пл. 142 - 143°C.

**5'-Азидо-2',5'-дидезокси-5-триметилсилил-уридин (III).** Раствор 0.35 г (0.8 ммоль) 2'-дезокси-5'-О-тозил-5-триметилсилилуридина (II) и 0.14 г (2.86 ммоль) LiN<sub>3</sub> в 10 мл DMF перемешивали 2.5 ч в токе азота при температуре бани 100°C. Растворитель упаривали в вакууме, остаток соупаривали с этанолом (2 × 10 мл). Полученный густой

сироп растворяли в 15 мл 50% метанола и перемешивали с дауэксом-50 (H<sup>+</sup>). Через 30 мин смолу отделяли, промывали метанолом и водой, метанол упаривали в вакууме, выпавший осадок 5'-азида (III) отделяли, промывали на фильтре охлажденной водой (2 × 1 мл), сушили в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Т. пл. 168 - 169°C.

**5'-Амино-2',5'-дидезокси-5-триметилсилилуридин (IV).** К раствору 0.1 г (0.3 ммоль) азидонуклеозида (III) в 7 мл абс. этанола прибавляли 0.08 г 10% Pd/C и гидрировали 4 ч при 20 - 22°C. Катализатор отделяли, растворитель упаривали в вакууме, выделяли соединение (IV).

**3'-Амино-2',3'-дидезокси-5-триметилсилилуридин (VI).** Получали из 0.3 г (0.92 ммоль) 3'-азидо-2',3'-дидезокси-5-триметилсилилуридина (V) [8] и 0.23 г 10% Pd/C, как описано для соединения (IV).

**2',3'-Дидезокси-3'-(N'-этилсукцинимидо)- и 2',5'-дидезокси-5'-(N'-этилсукцинимидо)аминонуклеозиды (X) - (XVI).** К раствору 0.29 ммоль аминоклеозида (IV, VI - IX) и 0.04 мл (0.3 ммоль) Et<sub>3</sub>N в 2 мл безводного DMF при перемешивании прибавляли тремя порциями в течение 5 ч 0.22 г (1.76 ммоль) N-этилмалеимида. Через 24 ч реакционную смесь упаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на пластинках с закрепленным слоем силикагеля в системе В. Для нуклеозидов (VI) и (VII) выделяли индивидуальные диастереомеры (XI), (XII) и (XIII), (XIV) соответственно. Выход и характеристики синтезированных соединений см. табл. 1.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. De Clercq E., Van Aerschot A., Herdewijn P., Baba M., Pauwels R., Balzarini J. // *Nucleosides & Nucleotides*. 1989. V. 8. № 5 - 6. P. 659 - 671.
2. Мельник С.Я., Бахмедова А.А., Ярцева И.В., Жукова О.С., Яворская Н.П. // *Биоорганическая химия*. 1991. Т. 17. № 8. С. 1101 - 1110.
3. Horwitz J.P., Tomson A.J., Urbanski J.A., Chua J. // *J. Org. Chem.* 1962. V. 27. № 9. P. 3045 - 3048.
4. Reist E., Benitez A., Goodman L. // *J. Org. Chem.* 1964. V. 29. № 3. P. 554 - 558.
5. Czerwinski A., König W.A., Martelli S., Sowinski P., Bontemps-Gracq M., Möringer C., Kolodziejczyk P., Borowski E. // *J. Antibiotics*. 1987. V. XL. № 7. P. 1067 - 1070.
6. Мельник С.Я., Бахмедова А.А., Недорезова Т.П., Ярцева И.В., Жукова О.С., Добрынин Я.В., Преображенская М.Н., Колесников С.П., Ли В.Я., Рогожин Н.С., Нефедов О.М., Чекунова Э.В., Маренникова С.С. // *Биоорганическая химия*. 1985. Т. 11. № 9. С. 1248 - 1252.
7. Мельник С.Я., Бахмедова А.А., Миникер Т.Д., Ярцева И.В., Преображенская М.Н., Загуляева О.А., Мамаев В.П., Чекунова Э.В., Маренникова С.С. // *Биоорганическая химия*. 1984. Т. 10. № 12. С. 1645 - 1654.
8. Мельник С.Я., Бахмедова А.А., Ярцева И.В., Преображенская М.Н., Загуляева О.А., Мамаев В.П. // *Биоорганическая химия*. 1991. Т. 17. № 11. С. 1526 - 1533.

## Synthesis of Potential Antimetabolites in the Series of Sugar Modified Pyrimidine 2'-Deoxynucleosides

A. A. Bakhmedova, I. V. Yartseva, and S. Ya. Mel'nik\*

Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow, 115478

**Abstract** - The interaction of 3'-amino-2',3'-dideoxy- or 5'-amino-2',5'-dideoxy-5-substituted pyrimidine nucleosides with N-ethylmaleimide in DMF in the presence of Et<sub>3</sub>N gave two diastereomeric 2',3'-dideoxy-3'-(N-ethylsuccinimido)- or 2',5'-dideoxy-5'-(N-ethylsuccinimido)aminonucleosides in each reaction. For 3'-amino-5-trimethylsilyl- and 3'-amino-5-benzyloxymethyl-2',5'-dideoxyuridine diastereomeric 3'-(N-ethylsuccinimido)derivatives were separated by preparative TLC. Structures of synthesized analogs were confirmed by UV-, IR- and <sup>1</sup>H-NMR spectra. It has been shown that modified nucleosides at 10<sup>-5</sup> - 10<sup>-4</sup> M concentrations do not inhibit the thymidine incorporation into DNA of CaOv cells *in vitro*.

**Key words:** nucleosides, 3'- and 5'-modified; N-ethylmaleimide, diastereoisomers, cytotoxic properties.

\* To whom the correspondence should be sent.