



УДК 547.854.4'455.466.057

## МОДИФИКАЦИЯ ПИРИМИДИНОВЫХ НУКЛЕОЗИДОВ С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ПРОИЗВОДНЫХ НИКОТИНОВОЙ КИСЛОТЫ

© 1995 г. С. В. Макутова, И. Л. Плихтяк, И. В. Ярцева,  
Т. П. Иванова, С. Я. Мельник\*

Онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина РАМН, 115478, Москва, Каширское шоссе, 24

Поступила в редакцию 28.03.94 г.

В результате взаимодействия хлорангидрида никотиновой кислоты *in situ* с 2'-дезоксисуридином или его 3'-О-ацетил- и 5'-О-третилпроизводными получены 3'- и 5'-О-никотиноил-, а также 3',5'-ди-О-никотиноил- и N<sup>3</sup>,3'-О-диникотиноил-2'-дезоксисуридин. В аналогичных условиях из 2',3'-О-этоксиметилиден-6-азауридина и хлорангидрида никотиновой кислоты с последующим деблокированием синтезирован 5'-О-никотиноил-6-азауридин. Реакция 5'-амино-5'-дезоксиде-2',3'-О-этоксиметилиден-6-азауридина с никотиновой кислотой в присутствии EEDQ и последующее удаление 2',3'-О-защитной группы дает 5'-дезоксиде-5'-никотинамидо-6-азауридин. Идентичное соединение образуется из 5'-амино-5'-дезоксиде-6-азауридина и N-сукцинимидного эфира никотиновой кислоты. Структура полученных соединений подтверждена данными <sup>1</sup>H-ЯМР-спектров. Показано, что 3',5'-ди-О-никотиноил-2'-дезоксисуридин и 5'-дезоксиде-5'-О-никотинамидо-6-азауридин обладают цитотоксическими свойствами в отношении клеток CaOv *in vitro* (CE<sub>50</sub> 10<sup>-5</sup> M).

**Ключевые слова:** 2'-дезоксисуридин, 6-азауридин, никотиновая кислота, цитотоксическая активность.

Цель работы – синтез нуклеозидов-антиметаболитов, содержащих в углеводном остатке модифицирующую группу, способную к нековалентному взаимодействию с ДНК (по типу интеркаляции, ионного связывания и т.п.). При условии, что аналог сохранит способность к биоактивации, сочетание в одной молекуле свойств антиметаболита и, например, интеркалятора могло бы привести к получению соединений с ценными типами биологической активности. Модифицирующие группы, взаимодействующие с ДНК без образования ковалентных связей, широко используются в синтезе антисмысловых олигонуклеотидов, их присоединение осуществляется в основном по фосфатному остатку и реже по англицону [1, 2]. Введение флуоресцентной группы в углевод изучали при получении потенциальных терминаторов биосинтеза ДНК на основе 5'-трифосфатов 2',3'-дидезокси-3'-аминотимидина [3, 4].

На начальном этапе наших исследований для модификации нуклеозидов были выбраны доступные гетероарилкарбоновые кислоты (никотиновая, хинальдиновая, индол-3-илпропионовая), а также 1-нитроантрахинон-2-карбоновая кислота. Использование различных методов активации

карбоксильной группы давало возможность осуществить конденсацию кислоты с нуклеозидом по гидроксилу его углеводного остатка или по аминогруппе, предварительно введенной в углеводный остаток. Это позволяло синтезировать производные, в которых модифицирующая группа соединена с нуклеозидным фрагментом сложной эфирной или амидной связью, и получить данные о зависимости биологических свойств синтезированных соединений не только от структуры модифицирующей группы, но и от типа ее связи с нуклеозидом. В настоящем сообщении описана модификация 2'-дезоксисуридина и 6-азауридина производными никотиновой кислоты.

Для введения остатка никотиновой кислоты в молекулу нуклеозида мы использовали вариант хлорангидридного метода, описанный в работе [5]. При взаимодействии 2'-дезоксисуридина (I) с большим избытком никотиновой кислоты и POCl<sub>3</sub> в пиридине при 60°C получили, как можно было ожидать, 3',5'-ди-О-никотиноил-2'-дезоксисуридин (II). Ацилирование 3'-О- или 5'-О-защищенных нуклеозидов (III) или (VII) с использованием 1.5 экв. никотиновой кислоты привело к получению 3'-О-ацетил-5'-О-никотиноил- (IV) и 5'-О-третил-3'-О-никотиноил-2'-дезоксисуридина (VIII). При этом из реакционной смеси выделены в качестве побочных продуктов N<sup>3</sup>,5'-О- (V) и N<sup>3</sup>,3'-О-диникотиноилпроизводное (IX) соответственно. Для избирательного

Принятые сокращения: EEDQ – 2-этокси-1-этоксикарбонил-1,2-дигидрохинолин, DMF – N,N-диметилформамид.

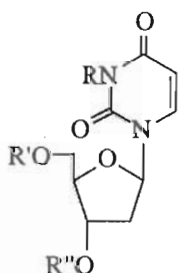
\* Автор для переписки.

О-деблокирования соединения (IV) и (VIII) подвергали кислому метанолизу, получая 5'-О-никотиноил- (VI) и 3'-О-никотиноил-2'-дезоксуридин (X). В аналогичных условиях в нуклеозиде (V), по-видимому, в первую очередь отщепляется N<sup>3</sup>-никотиноильный остаток, а затем 3'-О-ацетильная группа, в результате чего были выделены 5'-О-никотиноилдезоксуридин (VI) и соединение (IV). Детритилирование нуклеозида (VIII) с 1% HCl в метаноле привело к 3'-О-никотиноил-2'-дезоксуридину (X). В этих условиях из нуклеозида (IX) образуются N<sup>3</sup>,3'-О-диникотиноил-2'-дезоксуридин (XI) и соединение (X).

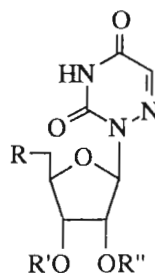
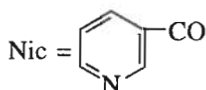
Присоединение остатка никотиновой кислоты по 5'-положению рибонуклеозида (XII) осуществлено с образованием сложноэфирной, а для производного (XVIII) – амидной связи. Взаимодействие 2',3'-О-этоксиметилиден-6-азауридина (XIII) [6] с хлорангидридом никотиновой кислоты *in situ* и последующее деблокирование 80% уксусной кислотой при нагревании привело к 5'-О-никотиноил-6-азауридину (XV). Для получения производного с амидной связью 2',3'-О-этоксиметилиден-6-азауридин (XIII) был превращен последовательно в 5'-О-тозил- (XVI), 5'-азидо- (XVII) и 5'-аминонуклеозид (XVIII) [7]. При взаимодействии соединения (XVIII) с никотиновой кислотой в тетрагидрофуране в присутствии EEDQ образуется 5'-дезоксид-5'-никотинамидо-2',3'-этоксиметилиден-6-азауридин (XIX). Стандартные условия

для последующего удаления 2',3'-этоксиметилиденной защиты оказались слишком жесткими, и 5'-никотинамидопроизводное (XX) было выделено после хроматографии с выходом лишь 9%. В связи с этим мы предприняли синтез незащищенного аминоклеозида (XXIII) исходя из 6-азауридина (XII) через стадии образования 5'-О-тозил- (XXI) и 5'-азидопроизводного (XXII). В результате реакции аминоклеозида (XXIII) с N-оксисукцинимидным эфиром никотиновой кислоты [8] с выходом 56% синтезировано соединение, которое, по данным ТСХ и <sup>1</sup>H-ЯМР, идентично 5'-дезоксид-5'-никотинамидо-6-азауридину (XX), полученному из нуклеозида (XIX).

Данные спектров <sup>1</sup>H-ЯМР (табл. 1) синтезированных соединений подтверждают предложенную для них структуру. Ацилирование углеводного остатка в 2'-дезоксуридине (I) приводит к значительному сдвигу в слабое поле сигналов протонов H3' и/или H5'a и H5'b, а также H2'a и H2'b. При сопоставлении спектров соединений (X), (XI) с (IV) или (VI) отмечено, что дезэкранирующее влияние 3'-О-никотиноильного остатка вызывает смещение сигнала протона H2'b в слабое поле на ≈ 0.3 м. д. по сравнению с 5'-О-никотиноилпроизводными (IV) и (VI). Кроме того, для 5'-незамещенных нуклеозидов (I), (X), (XI) характерно дезэкранирование протона H6 вследствие взаимодействия его с 5'-ОН [9]. Наличие двух остатков никотиновой кислоты в соединениях (II),



- R = R' = R'' = H (I)  
 R = H, R' = R'' = Nic (II)  
 R = R' = H, R'' = Ac (III)  
 R = H, R' = Nic, R'' = Ac (IV)  
 R = R' = Nic, R'' = Ac (V)  
 R = R'' = H, R' = Nic (VI)  
 R = R'' = H, R' = Tr (VII)  
 R = H, R' = Tr, R'' = Nic (VIII)  
 R = R'' = Nic, R' = Tr (IX)  
 R = R' = H, R'' = Nic (X)  
 R = R'' = Nic, R' = H (XI)



- R = OH, R' = R'' = H (XII)  
 R = OH, R', R'' = >C(H)OEt (XIII)  
 R = ONic, R', R'' = >C(H)OEt (XIV)  
 R = ONic, R' = R'' = H (XV)  
 R = OTs, R', R'' = >C(H)OEt (XVI)  
 R = N<sub>3</sub>, R', R'' = >C(H)OEt (XVII)  
 R = NH<sub>2</sub>, R', R'' = >C(H)OEt (XVIII)  
 R = NH = Nic, R', R'' = >C(H)OEt (XIX)  
 R = NH = Nic, R' = R'' = H (XX)  
 R = OTs, R' = R'' = H (XXI)  
 R = N<sub>3</sub>, R' = R'' = H (XXII)  
 R = NH<sub>2</sub>, R' = R'' = H (XXIII)

Таблица 1. Спектры <sup>1</sup>H-ЯМР соединений (I) - (XI)

Соединение	Химические сдвиги протонов, δ, м. д.														Растворитель
	Пиримидиновый цикл			Углеводный цикл						Остаток никотиновой кислоты*				Другие протоны	
	H5	H6	NH	H1'	H2'a	H2'b	H3'	H4'	H5'a	H5'b	H2''	H4''	H5''		
I	5.69	7.96		6.26	2.30	2.20	3.93	4.39	3.78	3.72	-	-	-	-	CD <sub>3</sub> OD
II	5.67	7.17		6.31	2.73	2.66	5.74	4.61	4.73		9.17	8.43	7.50	8.76	
	5.70	7.45	8.90	6.34	2.79	2.42	5.65	4.56	4.74		9.25	8.31	7.44	8.84	CDCl <sub>3</sub>
IV	5.67	7.43	9.75	6.27	2.58	2.28	5.35	4.38	4.64		9.22	8.30	7.44	8.83	2.13 (OAc) CDCl <sub>3</sub>
V	5.79	7.55	-	6.23	2.62	2.30	5.35	4.41	4.67		9.23	8.30	7.46	8.85	2.11 (OAc) CDCl <sub>3</sub>
											9.08	8.23	7.46	8.85	
VI	5.65	7.43	8.61	6.18	2.58	2.28	4.56	4.26	4.69	4.60	9.23	8.30	7.44	8.82	CDCl <sub>3</sub>
VII	5.34	7.82		6.27	2.42	2.23	4.05	4.53	3.43		-	-	-	-	7.40 - 7.20 (OTr) CD <sub>3</sub> OD
VIII	5.38	7.77	8.70**	6.44	2.69	2.51	5.72	4.30	3.64	3.52	9.23	8.30	7.77	8.83	7.40 - 7.20 (OTr) CDCl <sub>3</sub>
IX	5.46	7.93	-	6.43	2.74	2.59	5.76	4.34	3.68	3.56	9.20	8.27	7.50	8.86	7.50 - 7.20 (OTr) CDCl <sub>3</sub>
											9.09	8.25	7.20	8.81	
X	5.73	8.05		6.37	2.60	2.46	5.61	4.28	3.98	3.86	9.16	8.43	7.58	8.76	CD <sub>3</sub> OD
XI	5.88	8.03	-	6.39	2.67	2.54	5.66	4.31	4.03		9.22	8.28	7.48	8.85	CDCl <sub>3</sub>
											9.09	8.28	7.42	8.81	

Соединение	Константы спин-спинового взаимодействия (J, Гц) протонов углеводного цикла									Растворитель
	1',2'a	1',2'b	2'a,2'b	2'a,3'	3',2'b	4',3'	4',5'a	4',5'b	5'a,5'b	
I	6.8	7.0	13.8	3.8	6.5	3.0	3.4	3.9	12.0	CD <sub>3</sub> OD
II	6.2	7.2	14.4	3.1	7.8	3.1				CD <sub>3</sub> OD
	5.6	8.0	14.5	2.1	6.8	2.1				CDCl <sub>3</sub>
IV	5.7	8.0	14.4	2.3	6.7	2.3				CDCl <sub>3</sub>
V	5.5	7.9	14.1	2.3	6.7	2.3				CDCl <sub>3</sub>
VI	6.6	6.6	13.5	4.6	6.6		4.6	3.6	12.2	CDCl <sub>3</sub>
VII	6.4	6.4	13.7			4.0				CD <sub>3</sub> OD
VIII	6.0	8.2	14.4	2.0	6.7	2.0	2.8	2.8	10.7	CDCl <sub>3</sub>
IX	6.0	8.1	14.4	2.5	6.1		2.8	2.8	11.4	CDCl <sub>3</sub>
X	5.8	8.2	14.4	1.9	6.1	1.9				CD <sub>3</sub> OD
XI	5.8	8.2	14.4	1.9	6.1	1.9				CDCl <sub>3</sub>

\* Константы спин-спинового взаимодействия протонов остатка никотиновой кислоты: J<sub>2'',4''</sub> 2.2, J<sub>2'',5''</sub> 0.9, J<sub>4'',5''</sub> 7.9, J<sub>4'',6''</sub> 1.7, J<sub>5'',6''</sub> 4.9.

\*\* J<sub>5,NH</sub> 2.1.

(V), (IX) и (X) согласуется с соотношением интегральных интенсивностей сигналов никотиноильных протонов и протонов углеводного цикла. Положение никотиноильных групп в молекуле нуклеозида подтверждает присутствие сигнала протона при N<sup>3</sup> для соединения (II) и отсутствие этого сигнала для соединений (V), (IX), (XI).

В спектрах <sup>1</sup>H-ЯМР производных б-азауридина (XIII), (XIV), (XVIII) и (XIX), содержащих 2',3'-этоксиметилиденовую группу, наблюдается двойной набор сигналов всех протонов, свидетельствующий о том, что каждое из этих соединений является смесью двух диастереомеров (табл. 2). Слабополянный сдвиг сигналов протонов H5'a и H5'b в

Таблица 2. Спектры  $^1\text{H}$ -ЯМР соединений (XIII) - (XXIII)

Соединение	Химические сдвиги протонов, $\delta$ , м. д.											Растворитель	
	Пиримидиновый цикл	Углеводный цикл						Остаток никотиновой кислоты					Другие протоны
		H5	H1'	H2'	H3'	H4'	H5'a	H5'b	H2''	H4''	H5''		
XIII	7.46 7.46	6.34 6.21	5.09 5.13	4.91 4.95	4.48 4.30	3.90 - 3.56 3.90 - 3.56		-	-	-	-	6.01, 3.65, 1.27 6.01, 3.65, 1.27 [C(H)OEt]	$\text{CDCl}_3$
XIV	7.39 7.39	6.37 6.29	5.22 5.20	4.94 5.07	4.71 4.45	4.60 - 4.40 4.60 - 4.40		9.27	8.31	7.42	8.82	6.03, 3.67, 1.28 6.07, 3.62, 1.23 [C(H)OEt]	$\text{CDCl}_3$
XV	7.29	6.11	4.67	4.50 - 4.30	4.24	4.50 - 4.30		9.15	8.40	7.58	8.76		$\text{CDCl}_3$ + + $\text{DMSO-}d_6$
XVIII	7.30 7.29	6.13 6.04	5.04 5.07	4.80 5.88	4.24 4.05	2.90 2.82	2.82 2.79	-	-	-	-	6.05, 3.44, 1.17 6.11, 3.59, 1.12 [C(H)OEt]	$\text{DMSO-}d_6$
XIX	7.43 7.43	6.30 6.20	5.19 5.19	4.98 4.98	4.32 4.54	3.75 - 3.55 3.75 - 3.55		8.95	8.21	7.52	8.67	6.01, 3.75, 1.23 6.07, 3.55, 1.19 [C(H)OEt]	$\text{CD}_3\text{OD}$
XX	7.42 7.30	5.92 6.07	4.27 4.41	4.06 4.25	3.99 4.12	3.54 3.68	3.42	8.99	8.18	7.49	8.69	8.65 ( $-\text{CH}_2\text{NH}$ )	$\text{DMSO-}d_6$ $\text{CD}_3\text{OD}$
XXI	7.39	5.85	4.11	4.05 - 3.85		4.21		-	-	-	-	12.23 (NH3); 7.73, 7.40, 2.40 ( $p\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4$ ), $^3J_{\text{NH}}$ 8.0 Гц	$\text{DMSO-}d_6$
XXIII	7.30	5.92	4.21	4.00	3.79	2.83	2.67	-	-	-	-		$\text{DMSO-}d_6$

Соединение	Константы спин-спинового взаимодействия, $J$ , Гц			Растворитель
	1',2'	2',3'	3',4'	
XIII	3.1 2.5	7.4 6.1	3.7 3.0	$\text{CDCl}_3$
XIV	2.0 1.4	6.8 6.1	3.8 3.4	$\text{CDCl}_3$
XVIII	2.0 1.3	7.0 6.0	3.1 3.1	$\text{DMSO-}d_6$
XIX	1.7 1.1	6.2 6.7	3.4 3.4	$\text{CD}_3\text{OD}$
XX	3.6 3.0	3.6 5.5	3.6	$\text{DMSO-}d_6$ $\text{CD}_3\text{OD}$
XXI	2.4			$\text{DMSO-}d_6$
XXIII*	3.5	5.1	5.1	$\text{DMSO-}d_6$

\*  $J_{4,5a}$  4.1,  $J_{4,5b}$  6.8,  $^3J_{\text{NH}}$  13.1.

спектрах соединений (XIV) и (XV) по сравнению с исходным нуклеозидом (XIII) подтверждает положение никотиноидного остатка при C5'. Для аминонуклеозидов (XVIII) и (XXIII) характерен сильнополюсный сдвиг сигналов протонов H5'a и H5'b по сравнению с соединением (XIII) [10]. Аци-

лирование аминогруппы приводит к сдвигу этих сигналов в слабое поле, о чем свидетельствуют данные спектров производных (XIX) и (XX).

Изучение цитотоксических свойств соединений (II), (VI), (X), (XV) и (XX) на культуре клеток карциномы яичника человека  $\text{CaOV}$  показало,



что нуклеозиды (II) и (XX) в концентрации  $10^{-4}$  М тормозят включение тимидина в ДНК клеток на 73 и 67% ( $CE_{50}$   $10^{-5}$  М).

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры  $^1\text{H}$ -ЯМР синтезированных соединений записаны на приборе Bruker WH-360 (ФРГ). Внутренний стандарт – тетраметилсилан. ИК-спектры снимали на приборе Perkin-Elmer IR-283 (США) в таблетке с KBr, УФ-спектры – на приборе Spekdord UV VIS (ФРГ) в этанольном растворе с концентрацией 0.02 мг/мл в кварцевых кюветах толщиной 1 см. Для ТСХ использовали силуфол UV<sub>254</sub> (Kavalier, ЧР), препаративную хроматографию проводили на пластинах (20 × 20 см) силикагеля LSL<sub>254</sub>, 5 - 40 мкм (Chemapol, ЧР) при толщине слоя 1 мм. Флеш-хроматографию осуществляли на силикагеле LL, 5 - 40 мкм (Chemapol, ЧР). Для хроматографии применяли смеси растворителей: хлороформ–метанол, 8 : 1 (А), 10 : 1 (Б), 20 : 1 (В), бензол–ацетон, 1 : 1 (Г), 5 : 1 (Д). В работе использовали BEDQ фирмы Fluka Chemie AG (Швейцария). Данные элементного анализа соединений (II), (XIV), (XV), (XVIII), (XX), (XXII), (XXIII) (С, Н, N), (IV) - (VI), (VIII), (IX), (XIX) (N), (XVI) (S) и (XXI) (N, S) удовлетворительно совпадают с вычисленными значениями. Цитотоксические свойства синтезированных соединений изучали на культуре клеток карциномы яичника человека CaOv по методике, описанной в работе [11].

**3',5'-Ди-О-никотиноил-2'-дезоксуридин (II).** К раствору 495 мг (4 ммоль) никотиновой кислоты в 1.33 мл пиридин прибавляли 312 мг (2.03 ммоль)  $\text{POCl}_3$  и перемешивали 1 ч при 60°C. Затем добавляли 155 мг (0.68 ммоль) 2'-дезоксуридина (I), через 3 ч при 55 - 60°C реакционную смесь охлаждали, прибавляли 2.5 мл воды и оставляли на 20 ч при 4°C. Смесь фильтровали, к фильтрату прибавляли 5 мл бензола, охлаждали, выпавший осадок отделяли и кристаллизовали из ацетона. Получали 120 мг (40%) продукта (II). Т. пл. 165°C.  $R_f$  0.3 (Б).

**3'-О-Ацетил-5'-О-никотиноил-2'-дезоксуридин (IV) и 3'-О-ацетил-N<sup>3</sup>,5'-О-диникотиноил-2'-дезоксуридин (V).** а) К раствору 2.95 г (24 ммоль) никотиновой кислоты в 8 мл пиридина при перемешивании прибавляли 1.2 мл (12.2 ммоль)  $\text{POCl}_3$ , выдерживали 1 ч при 60°C, добавляли 1.1 г (4.07 ммоль) 3'-О-ацетил-2'-дезоксуридина (III) и перемешивали 3 ч, контролируя окончание реакции по ТСХ (система Б). К реакционной смеси прибавляли 15 мл воды, упаривали до половины объема, охлаждали до 4°C. Выпавший осадок, содержащий, по данным ТСХ, помимо исходных два новых соединения с  $R_f$  0.5 и 0.7, обрабатывали 30 мл хлороформа, нерастворившуюся никотиновую кислоту отделяли. Фильтрат упаривали в вакууме, остаток (630 мг) разделяли препаратив-

ной ТСХ в системе Б. Получали 70 мг соединения (IV) и 330 мг соединения (V). Маточный раствор, полученный после первой фильтрации, упаривали в вакууме, к остатку прибавляли 50 мл воды, затем экстрагировали хлороформом (5 × 10 мл). Объединенные экстракты упаривали в вакууме, остаток (0.5 г) разделяли препаративной ТСХ. Получали 27 мг соединения (IV) и 280 мг соединения (V). Общий выход 5'-О-никотиноилпроизводного (IV) 97 мг (6.3%),  $R_f$  0.5 (Б). Общий выход N<sup>3</sup>,5'-О-диникотиноилпроизводного (V) 610 мг (31.3%),  $R_f$  0.7 (Б).

б) К раствору 2.88 г (23.4 ммоль) никотиновой кислоты в 12 мл пиридина при перемешивании добавляли 1.07 мл (11.7 ммоль)  $\text{POCl}_3$ , выдерживали 1 ч при 60°C. Добавляли 4.2 г (15.6 ммоль) 3'-О-ацетил-2'-дезоксуридина (III), перемешивали 3 ч при 40 - 50°C, после чего оставляли на 20 ч при 20 - 22°C. К реакционной смеси прибавляли 100 мл воды, раствор экстрагировали хлороформом (5 × 15 мл), объединенные экстракты промывали последовательно разбавленной (1 : 10) HCl (4 × 15 мл), 15 мл 5% раствора  $\text{Na}_2\text{CO}_3$ , водой (5 × 15 мл), сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Хлороформ упаривали в вакууме, остаток (5.48 г) разделяли флеш-хроматографией в хлороформе. Получали 4.5 г смеси соединений (IV) и (V) в соотношении ≈ 1.5 : 1 и 0.86 г (14.7%) хроматографически однородного соединения (IV).

**5'-О-Никотиноил-2'-дезоксуридин (VI).** а) Растворяли 100 мг (20.8 ммоль) 3'-О-ацетил-N<sup>3</sup>,5'-О-диникотиноил-2'-дезоксуридина (V) в 10 мл 1% хлористого водорода в метаноле. Через 1 ч при 20 - 22°C прибавляли  $\text{Ag}_2\text{CO}_3$  до pH 7 по универсальному индикатору, выпавший осадок отделяли, промывали метанолом. Фильтрат упаривали в вакууме, остаток разделяли препаративной ТСХ в системе Б. Из верхней фракции выделяли 27 мг (34.6%) соединения (IV), из нижней – 17 мг (24.6%) 5'-О-никотиноил-2'-дезоксуридина (VI),  $R_f$  0.3 (Б). УФ-спектр ( $\lambda_{\text{max}}$ , нм ( $\epsilon$ )): 218 (11800), 262 (11300). ИК-спектр ( $\nu$ ,  $\text{cm}^{-1}$ ): 1720 (CO).

б) В аналогичных условиях из 100 мг (26.7 ммоль) 3'-ацетата (IV) получали 50 мг (72.5%) 5'-О-никотиноил-2'-дезоксуридина (VI); при этом выделяли 22 мг (22%) непрореагировавшего соединения (IV).

**3'-О-Никотиноил-5'-О-третил-2'-дезоксуридин (VIII) и N<sup>3</sup>,3'-О-диникотиноил-5'-О-третил-2'-дезоксуридин (IX).** К раствору 0.26 г (2.13 ммоль) никотиновой кислоты в 0.9 мл пиридина прибавляли 0.1 мл (1.06 ммоль)  $\text{POCl}_3$ . Через 1 ч при 60°C реакционную смесь охлаждали до 40°C, прибавляли 0.5 г (1.06 ммоль) 5'-О-третил-2'-дезоксуридина (VII) и перемешивали 3 ч при 50°C. Затем выливали в 100 мл воды и экстрагировали хлороформом (3 × 10 мл). Объединенные экстракты упаривали в вакууме, остаток (600 мг) разделяли препаративной ТСХ на две фракции



с  $R_f$  0.56 и 0.65 (Б); каждую из фракций повторно хроматографировали. Из нижней фракции получили 160 мг (26.2%) 3'-О-никотиноил-5'-О-третил-2'-дезоксинуридина (VIII), из верхней – 270 мг (37.5%) N<sup>3</sup>,3'-О-диникотиноил-5'-О-третил-2'-дезоксинуридина (IX).

**3'-О-Никотиноил-2'-дезоксинуридин (X) и N<sup>3</sup>,3'-О-диникотиноил-2'-дезоксинуридин (XI).** Из 100 мг (0.14 ммоль) N<sup>3</sup>,3'-О-диникотиноил-5'-О-третил-2'-дезоксинуридина (IX) в условиях, описанных для соединения (VI), через 30 мин получали 26 мг (53%) 3'-О-никотиноил-2'-дезоксинуридина (X) и 12 мг (18.6%) N<sup>3</sup>,3'-О-диникотиноил-2'-дезоксинуридина (XI).

**2',3'-О-Этоксиметилиден-6-азауридин (XIII).** Суспензию 5.85 г (23.8 ммоль) 6-азауридина (XII) и 0.45 г (2.37 ммоль) *n*-толуолсульфокислоты в 40 мл HC(OEt)<sub>3</sub> перемешивали 24 ч при 20 - 22°C. Реакционную смесь упаривали в вакууме, остаток очищали хроматографией на колонке (4 × 20 см) с силикагелем 40 - 100 мкм, элюируя продукт смесью В. Выход соединения (XIII) 3.7 г (51%).

**5'-О-Никотиноил-2',3'-О-этоксиметилиден-6-азауридин (XIV).** К раствору 310 мг (2.5 ммоль) никотиновой кислоты в 3 мл пиридина при перемешивании добавляли 0.12 мл (1.25 ммоль) POCl<sub>3</sub> и нагревали смесь 1 ч при 60°C. Затем смесь охлаждали до 40°C и при перемешивании добавляли 500 мг (1.66 ммоль) 2',3'-О-этоксиметилиден-6-азауридина (XIII), выдерживали 3 ч при 40 - 50°C. Реакционную смесь выливали в 15 мл охлажденной льдом воды, экстрагировали хлороформом (3 × 5 мл). Органический слой промывали водой (3 × 5 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали досуха. Остаток очищали препаративной ТСХ в системе Б. Выход продукта (XIV) 0.49 г (73%).  $R_f$  0.6 (Б).

**5'-О-Никотиноил-6-азауридин (XV).** Раствор 0.52 г (1.28 ммоль) производного (XIV) в 10 мл 80% уксусной кислоты нагревали 1 ч при кипении. Реакционную смесь упаривали досуха, полученное светло-коричневое масло растирали со смесью хлороформ-метанол, образующиеся бесцветные кристаллы отделяли, сушили в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Выход продукта (XV) 0.285 г (64%). Т. пл. 210 - 211°C.  $R_f$  0.2 (Б).

**5'-О-Тозил-2',3'-О-этоксиметилиден-6-азауридин (XVI).** К раствору 1.65 г (5.5 ммоль) 2',3'-О-этоксиметилиден-6-азауридина (XIII) в 10 мл безводного пиридина при 0°C добавляли 2.1 г (11 ммоль) *n*-толуолсульфохлорида и перемешивали реакционную смесь 1 ч при 0°C, после чего оставляли на 24 при 4°C. Затем выливали в 40 мл смеси воды со льдом, отделяли коричневый маслообразный остаток, растворяли его в 20 мл хлороформа и промывали водой (3 × 20 мл). Органический слой упаривали в вакууме, остаток хроматографировали на колонке (4 × 25 см), элюировали

смесью хлороформ-метанол (30 : 1). Выход соединения (XVI) 2.0 г (80%).  $R_f$  0.5 (Б).

**5'-Азидо-5'-дезоксидо-2',3'-О-этоксиметилиден-6-азауридин (XVII).** К раствору 8.45 г (18.6 ммоль) 5'-О-тозилпроизводного (XVI) в 50 мл безводного DMF добавляли 1.21 г (18.6 ммоль) NaN<sub>3</sub>. Реакционную смесь перемешивали 6 ч при 70°C, затем охлаждали до 4°C, выпавшие кристаллы тозилата натрия отделяли, фильтрат упаривали досуха, остаток хроматографировали на колонке (5 × 15 см), элюируя смесью петролейный эфир-ацетон (3 : 1). Выход 5'-азидопроизводного (XVII) 4.62 г (76%).  $R_f$  0.4 (Д).

**5'-Амино-5'-дезоксидо-2',3'-О-этоксиметилиден-6-азауридин (XVIII).** Смесь, состоящую из 4.19 г (12.8 ммоль) 5'-азидонуклеозида (XVII), 4.71 г (18 ммоль) трифенилфосфина и 50 мл безводного пиридина, перемешивали при 20 - 22°C. Через 3 ч к реакционной смеси добавляли 25 мл 10 н. NH<sub>4</sub>OH, перемешивали 2 ч и упаривали досуха. К остатку приливали 70 мл воды, нерастворившийся осадок отделяли, промывали водой. Объединенные фильтраты упаривали в вакууме, остаток кристаллизовали из этанола. Выход 5'-аминопроизводного (XVIII) 2.21 г (57%).  $R_f$  0.0 (Б). УФ-спектр ( $\lambda_{\max}$ , нм (ε)): 262 (6900).

**5'-О-Никотинамидо-5'-дезоксидо-2',3'-О-этоксиметилиден-6-азауридин (XIX).** Смесь, состоящую из 0.3 г (1.0 ммоль) 5'-аминопроизводного (VII), 0.12 г (1.0 ммоль) никотиновой кислоты и 0.30 г (1.2 ммоль) EEDQ в 20 мл тетрагидрофурана, перемешивали 24 ч при 20 - 22°C. Затем упаривали в вакууме досуха, остаток растирали с 25 мл диэтилового эфира. Получали 0.31 г (77%) продукта (XIX) в виде бесцветного порошка.  $R_f$  0.2 (Г). УФ-спектр ( $\lambda_{\max}$ , нм (ε)): 220 (13300), 264 (10100). ИК-спектр ( $\nu$ , см<sup>-1</sup>): 1730 (амид I), 1700 (амид II).

**5'-О-Тозил-6-азауридин (XXI)** получали из 4.5 г (18.4 ммоль) 6-азауридина (I) и 4.2 г (22 ммоль) *n*-толуолсульфохлорида в 50 мл безводного пиридина по методике, описанной для синтеза соединения (XVI). Реакционную смесь упаривали досуха, остаток хроматографировали на колонке (4 × 20 см) с силикагелем, используя в качестве элюента смесь В. Выход продукта (XXI) 3.16 г (43%).  $R_f$  0.3 (Б).

**5'-Азидо-5'-дезоксидо-6-азауридин (XXII)** получали из 4.5 г (11 ммоль) 5'-О-тозил-6-азауридина (XXI) и 0.73 г (11 ммоль) NaN<sub>3</sub> в 30 мл безводного DMF так же, как соединение (XVII). Реакционную смесь упаривали в вакууме, остаток хроматографировали на колонке (4 × 20 см) с силикагелем, используя в качестве элюента смесь Б. Выход продукта (XXII) 2.34 г (77%).  $R_f$  0.4 (А). ИК-спектр ( $\nu$ , см<sup>-1</sup>): 2100 (N<sub>3</sub>).

**5'-Амино-5'-дезоксидо-6-азауридин (XXIII)** получали из 0.28 г (1 ммоль) 5'-азидо-5'-дезоксидо-6-азауридина (XXII) и 0.38 г (1.45 ммоль) трифенил-

фосфина в 25 мл пиридина так же, как соединение (XVIII). Выход продукта (XXIII) 0.137 г (56%).  $R_f$  0.0 (Б).

#### 5'-О-Никотинамидо-5'-дезоксид-6-азауридин (XX).

1) Растворили 203 мг (0.5 ммоль) 2',3'-О-этоксиметилиденового производного (XIX) в 10 мл 50% уксусной кислоты. Через 48 ч растворитель упаривали в вакууме, остаток хроматографировали на пластине с силикагелем в системе А. Выход продукта (XX) 15.8 мг (9.0%).  $R_f$  0.2 (А).

2) Смесь, состоящую из 600 мг (2.46 ммоль) 5'-амино-5'-дезоксид-6-азауридина (XXIII) и 600 мг (2.70 ммоль) N-сукцинимидного эфира никотиновой кислоты [8] в 25 мл 50% этанола, перемешивали 20 ч при 20 - 22°C. Реакционную смесь упаривали досуха, остаток растворяли в метаноле и осаждали хлороформом. Операцию повторяли дважды. Выход 5'-никотинамидопроизводного (XX) 480 мг (56%). Т. пл. 135 - 137°C.

Работа финансировалась Госбюджетом РФ и Государственной программой "Национальные приоритеты в биологии и медицине", грант 48.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Кнорре Д.Г., Зарытова В.Ф., Бадашкева А.Г., Федорова О.С. // Итоги науки и техники. Серия "Биотехнология". М.: ВИНТИ, 1991. Т. 37. С. 3 - 180.
2. Uhlmann E., Peyman A. // Chem. Rev. 1990. V. 90. № 4. P. 543 - 583.
3. Beabekashvili R.Sh., Scamrov A.V., Kutateladze T.V., Mazo A.M., Krayevsky A.A., Kukhanova M.K. // Biochim. et biophys. acta. 1986. V. 868. P. 145 - 152.
4. Alexandrova L.A., Lukin M.A., Rosovskaya T.A., Kukhanova M.K. // Coll. Czech. Chem. Commun. 1990. V. 55. Sp. 1. № 1. P. 149 - 151.
5. Копелевич В.М., Шмуйлович Л.М., Трубников В.И. Способ получения N-никотиноил-γ-аминомасляной кислоты или ее эфиров. А. с. 325232 СССР // Б. И. 1972. № 3. С. 71.
6. Zemlicka J. // Chem. & Ind. 1964. P. 581.
7. Azhayev A.V., Krayevsky A.A., Smrt J. // Coll. Czech. Chem. Commun. 1979. V. 44. № 3. P. 792 - 798.
8. Bodor N.S. // PCT Int. Appl. WO 8600, 898 (CA 1987. V. 106. № 9. 67117u).
9. Zemlicka J., Horwitz P. // J. Amer. Chem. Soc. 1975. V. 97. № 14. P. 4089 - 4095.
10. Бахмедова А.А., Ярцева И.В., Мельник С.Я. // Биоорганическая химия. 1995. Т. 21. № 1. С. 45 - 48.
11. 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.

## Modification of Pyrimidine Nucleosides with the Use of Nicotinic Acid Derivatives

S. V. Makutova, I. L. Plikhtyak, I. V. Yartseva, T. P. Ivanova, and S. Ya. Mel'nik\*

Blokhin Cancer Research Center, Russian Academy of Medical Sciences,  
Kashirskoe sh. 24, Moscow, 115478 Russia

**Abstract** – Interaction of nicotinoyl chloride *in situ* with 2'-deoxyuridine, its 3'-O-acetyl-, or 5'-O-trityl derivatives led to 3'-O-nicotinoyl-, 5'-O-nicotinoyl-, 3',5'-di-O-nicotinoyl-, and N<sup>3</sup>,3'-di-O-nicotinoyl-2'-deoxyuridine. Similarly, 5'-O-nicotinoyl-6-azauridine resulted from the reaction of 2',3'-O-ethoxymethylidene-6-azauridine followed by the deprotection. Reaction of 5'-amino-5'-deoxy-2',3'-O-ethoxymethylidene-6-azauridine with nicotinic acid in the presence of 2-ethoxy-1-ethoxycarbonyl-1,2-dihydroquinoline followed by the cleavage of the 2',3'-O-protecting group gave 5'-deoxy-5'-nicotinamido-6-azauridine. The same compound was obtained from 5'-amino-5'-deoxy-6-azauridine and N-succinimidyl nicotinate. Structures of the compounds obtained were corroborated by <sup>1</sup>H NMR spectra. It is shown that 3',5'-di-O-nicotinoyl-2'-deoxyuridine and 5'-deoxy-5'-O-nicotinamido-6-azauridine are cytotoxic toward CaOv cells *in vitro* (CE<sub>50</sub> 10<sup>-5</sup> M).

**Key words:** 2'-deoxyuridine, 6-azauridine, nicotinic acid, cytotoxicity.

\* To whom correspondence should be addressed.