



УДК 547.455'118.3.057

СИНТЕЗ И БИОЛОГИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА 3,5-ЦИКЛОФОСФАТОВ И -АМИДОФОСФАТОВ 6-ГАЛОИД-6-ДЕЗОКСИ-1,2-О-АЛКИЛИДЕН- α -D-ГЛЮКОФУРАНОЗ

© 1998 г. М. П. Коротеев, Н. М. Пугашова, С. Б. Хребтова, Э. Е. Нифантьев[#],
О. С. Жукова*, Т. П. Иванова*, Н. М. Перетолчина*, Г. К. Герасимова*

Московский педагогический государственный университет им. В.И. Ленина, химический факультет,
119021, Москва, Несвижский пер., 3;

* Онкологический научный центр им. Н.Н. Блохина, Москва

Поступила в редакцию 22.04.97 г. Принята к печати 12.08.97 г.

В результате взаимодействия 3,5,6-бициклофосфитов 1,2-О-алкилиден- α -D-глюкофураноз с галогенами (с последующей обработкой нуклеофильными реагентами) и N-хлораминами синтезированы 3,5-циклофосфаты и -амидофосфаты 6-галогидрированных глюкофураноз. Показано, что *транс*-3,5-дибутиламидоциклофосфаты 6-дезоксид-1,2-О-изопропилиден- и 6-дезоксид-(R)-(2,2,2-трихлорэтилиден)-6-хлор- α -D-глюкофураноз обладают антипролиферативными свойствами в отношении клеток карциномы яичника человека (линия CaOv) *in vitro* (CE₅₀ ~ 10⁻⁵ M). *транс*-3,5-Дибутиламидоциклофосфат 6-дезоксид-1,2-О-изопропилиден-6-хлор- α -D-глюкофуранозы проявил также значительную противоопухолевую активность в отношении перевиваемого мышинного лейкоза P-388 *in vivo* (максимальное значение увеличения продолжительности жизни 100% при пятикратном ежедневном введении дозы 100 мг/кг).

Ключевые слова: 3,5-циклофосфаты глюкозы, синтез, антипролиферативная активность, противоопухолевые свойства.

Настоящая работа посвящена исследованию антипролиферативной и противоопухолевой активности ряда 3,5-циклофосфатов глюкозы, которые можно рассматривать как отдаленные структурные аналоги нуклеозидмоноциклофосфатов. 3,5-Моно- и диалкиламидофосфаты (I)–(XIX) и средние фосфаты (XX)–(XXV) были получены из 3,5,6-бициклофосфитов 1,2-О-алкилиден- α -D-глюкофураноз [1, 2] по разработанным ранее методам [2–6] (схема 1). Взаимодействие бициклофосфитов с N-хлораминами приводило к амидофосфатам *цис*-конфигурации* (Iб, II, VIб) [6]. Взаимодействие бициклофосфитов с галогенами также приводило к продуктам *цис*-конфигурации (галогенфосфатам), реакция которых с аминами протекала с преимущественным обращением конфигурации и образованием изомерных амидофосфатов с преобладанием *транс*-изомера (I)–(XIX) [2, 6]. При реакции галоидфосфатов со спиртами средние фосфаты (полные эфиры) (XX)–(XXV) образовывались в виде изомерных смесей с преобладанием продукта *цис*-конфигурации [3–5].

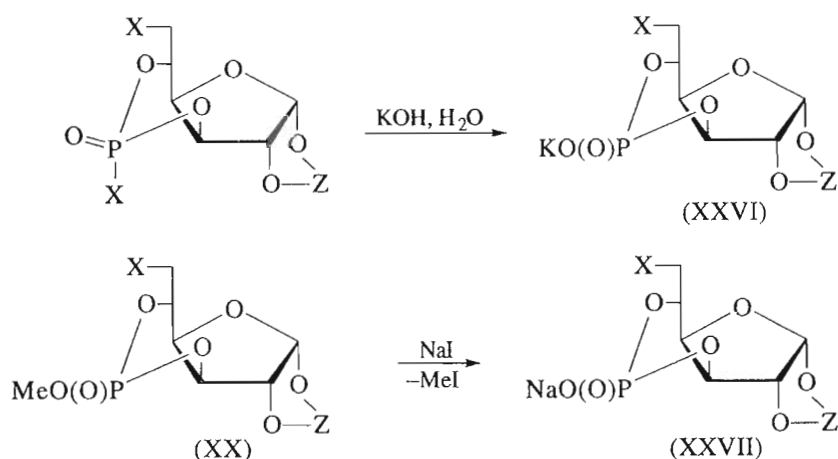
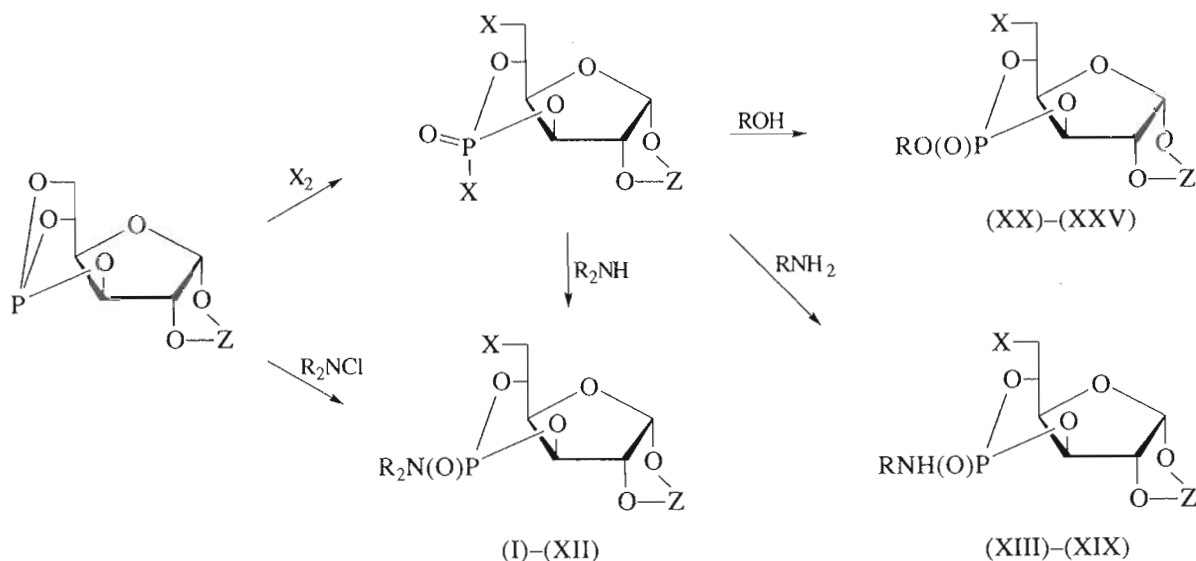
Для получения фосфата (XXVI) был использован щелочной гидролиз соответствующего хлорциклофосфата [3], однако более высокий выход натриевой соли (XXVII) был достигнут при взаимодействии метилфосфата (XX) с иодистым натрием [4] (схема 2).

Для исследований биологической активности мы синтезировали ряд 3,5-циклофосфорилированных производных глюкозы с различными заместителями у атома фосфора, двумя типами алкилиденной защиты и двумя различными галогенами в положении 6 (табл. 1). Большая часть этих соединений была описана ранее, данные рентгеноструктурного анализа для соединений (II), (IVa), (V), (XX), (XXV) приведены в работах [4–6], спектры ¹H- и ¹³C-ЯМР и результаты конформационного анализа соединений (I), (IV)–(VI), (XX), (XXI), (XXIII)–(XXVII) – в работах [2–6]. Данные спектров ¹H-ЯМР для впервые синтезированных фосфамидов (XIII), (XVIII), а также наиболее активных соединений (IV), (V) представлены в табл. 2.

Уже первые из полученных соединений этого типа проявили биологическую активность. Так, 3,5-пиперидидоциклофосфаты 6-дезоксид-6-хлор-1,2-О-алкилиденглюкофураноз ингибировали повышение концентрации Ca²⁺, индуцированное

[#] Автор для переписки (тел.: 246-57-90; факс: 246-77-66; e-mail: chemfak@centro.ru).

* При *цис*-конфигурации заместитель при атоме фосфора и галоидметильная группа расположены по одну сторону фосфоринанового кольца, при *транс*-конфигурации – по разные.



конканавалином А в тимocyтaх [7]. Мы предположили, что 3,5-циклофосфаты глюкозы могут проявлять и другие виды биологической активности.

Полученные соединения исследовали на антипролиферативную активность относительно культуры клеток карциномы яичника человека (линия СаОv) по изменению включения [³H]тимидина ([³H]Т) в ДНК по методике, описанной в работе [8]. Критерием антипролиферативности выбрана величина СЕ₅₀, не превышающая 10⁻⁴ М.

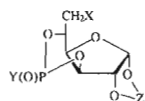
Наиболее высокую активность показали амидофосфаты – (IVa) и (V): для них СЕ₅₀ составила 1 × 10⁻⁵ М. Соединения (II), (IVб), (VII), (XII), (XV), (XVIIIa), (XVIIIб) обладали пограничной активностью (СЕ₅₀ = 10⁻⁴ М). В ряду средних триалкилфосфатов такую же активность имеет со-











единение (XXI). Среди 3,5-циклофосфатов – способных к ионизации солей – активных соединений не обнаружено.

Амид (IVa) проявил значительную противоопухолевую активность в отношении перевиваемого мышинного лейкоза Р-338 *in vivo*. Максимальное увеличение продолжительности жизни было равно 100% при пятикратном ежедневном введении дозы 100 мг/кг. Соединения (VII), (XV) обладали умеренной противоопухолевой активностью на солидных перевиваемых опухолях мышей. Торможение роста опухоли при карциноме легкого LLC составило 75%, при аденокарциноме молочной железы Са-755 – 68%.

Таким образом, природа заместителя при атоме фосфора оказывает выраженное влияние на

Таблица 1. Исследованные 3,5-циклофосфаты и амидофосфаты глюкозы



Соединение	X	Y	Z	Конфигурация	Литература
(Ia)	Cl	NEt ₂	IP	<i>транс</i>	[6]
(Iб)	Cl	NEt ₂	IP	<i>цис</i>	»
(II)	Cl	NEt ₂	TCE	»	»
(III)	Cl	NPr ₂ ⁿ	IP	<i>транс</i>	—
(IVa)	Cl	NBu ₂ ⁿ	IP	»	[6]
(IVб)	Cl	NBu ₂ ⁿ	IP	<i>цис</i>	»
(V)	Cl	NBu ₂ ⁿ	TCE	<i>транс</i>	»
(VI)	Cl		IP	»	[2, 6]
(VII)	Cl		TCE	»	—
(VIII)	Br		IP	»	—
(IX)	Cl		IP	»	—
(X)	Cl		IP	»	—
(XI)	Cl		TCE	»	—
(XII)	Br		TCE	»	—
(XIIIa)	Cl	NHBu ⁿ	IP	»	—
(XIIIб)	Cl	NHBu ⁿ	IP	<i>цис</i>	—
(XIV)	Cl	NHBu ⁿ	TCE	<i>транс</i>	—
(XV)	Cl	NHC ₁₂ H ₂₅	IP	»	—
(XVIa)	Cl	NHPr ^r	IP	»	—
(XVIб)	Cl	NHPr ^r	IP	<i>цис</i>	—
(XVII)	Cl	NHBu ^r	IP	<i>транс</i>	—
(XVIIIa)	Cl	NH- 	IP	»	—
(XVIIIб)	Cl	NH- 	IP	<i>цис</i>	—
(XIX)	Cl	NH- 	IP	»	—
(XX)	Cl	OMe	IP	»	[4, 5]
(XXI)	Cl	OEt	IP	»	»
(XXII)	Cl	OCH ₂ CH ₂ Cl	IP	»	—
(XXIII)	Cl	OBu ⁿ	IP	»	[4, 5]
(XXIV)	Cl	OAm ⁱ	IP	»	»
(XXV)	Cl	OPh	IP	»	»
(XXVI)	Cl	OK	IP	—	[3]
(XXVII)	Cl	ONa	IP	—	[4]

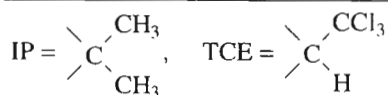


Таблица 2. Химические сдвиги (δ , м. д.) и константы спин-спинового взаимодействия (J , Гц) в спектрах ^1H -ЯМР амидофосфатов глюкозы (в CDCl_3)

Соединение	H1 ($J_{1,2}$)	H2 ($J_{2,3}$)	H3 ($J_{3,4}$) ($J_{3,P}$)	H4 ($J_{4,5}$) ($J_{4,P}$)	H5 ($J_{5,6}$) ($J_{5,P}$)	H6 ($J_{6,6'}$)	H6' ($J_{5,6'}$) ($J_{6,P}$)	CHNP ($J_{H,P}$)	Другие протоны
(IVa)	6.06 (3.6)	4.71 (0)	4.69 (3.5) (7.1)	4.49 (3.4) (1.5)	4.80 (4.2) (5.7)	3.82 (12.1)	3.76 (3.2) (3.2)	2.99 (9.8)	1.40 м, 1.26 м, 0.90 т ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.47 с, 1.27 с ($\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$)
(IVб)	д 5.96 (3.7)	д 4.60 (0)	дд 4.91 * *	м 4.31 (<1) *	м 4.67 (5.9) (20.6)	дд 3.94 (11.8)	м 3.87 (10.3) (0)	м 2.94 (13.2)	1.43 м, 1.24 м, 0.89 т ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.48 с, 1.31 с ($\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$)
(V)	д 6.29 (4.2)	д 4.98 (0)	дд 4.90 (3.9) (6.6)	ушир. с 4.92 (3.9) *	м 4.85 (4.4) (6.0)	дд 3.84 (12.2)	дд 3.77 (3.2) (3.2)	м 3.10 (13.2)	1.50 м, 1.29 м, 0.91 т ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 5.35 с (H-C-CCl_3);
(XIIIa)	д 6.06 (3.7)	д 4.74 (0)	дд 4.69 (3.5) (6.1)	м 4.53 (3.5) (1.1)	м 4.74 (4.0) *	дд 3.86 (12.1)	м 3.78 (3.2) (3.2)	м 2.96 (11.2)	3.04 м (NH); 1.47 м, 1.33 м, 0.90 т ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.49 с, 1.32 с ($\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$)
(XIIIб)	д 5.94 (3.6)	д 4.63 (0)	дд 4.91 (1.9) (1.0)	м 4.35 (1.6) (1.9)	м 4.65 (5.5) (18.6)	м 3.91 (11.8)	м 3.84 (8.8) (0)	м 2.87 (12.7)	3.21 м (NH); 1.42 м, 1.31 м, 0.87 т ($\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$); 1.49 с, 1.31 с ($\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$)
(XVIIIa)	д 6.08 (3.7)	д 4.74 (0)	м 4.66 (3.6) (5.7)	м 4.54 (3.3) (1.8)	м 4.69 (4.0) (5.9)	дд 3.86 (12.1)	дд 3.78 (3.3) (3.3)	м 3.12 (8.0)	2.80 т (NH); 1.91 м, 1.70 м, 1.60 м, 1.29 м, 1.15 м ($-\text{CH}_2-$) ₅
(XVIIIб)	д 5.95 (3.6)	д 4.66 (0)	дд 4.93 (1.9) (<1)	м 4.38 (1.7) (1.7)	м 4.66 (5.6) (17.5)	дд 3.93 (11.5)	м 3.87 (8.9) (0)	м 3.00 (8.5)	1.47 с, 1.30 с ($\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$) 2.70 т (NH); 1.89 м, 1.68 м, 1.60 м, 1.28 м, 1.15 м ($-\text{CH}_2-$) ₅
	д	д	уш. с	м	м	дд	дд	м	1.51 с, 1.34 с ($\text{CH}_3\text{-C-CH}_3$)

* КССВ не определена вследствие перекрывания или уширения сигналов.

антипролиферативную активность 3,5-циклофосфатов глюкозы. Наибольшее число соединений с высокой и пограничной активностью обнаружено среди амидофосфатов. Следует отметить, что способные к алкилирующему действию метиловый и β -хлорэтиловый эфиры (XX), (XXII) эффективными цитостатиками не являются ($\text{CE}_{50} > 10^{-4}$ М). Определенного влияния конфигурации фосфора для соединений с низкой и пограничной активностью не выявлено, но два наиболее активных дибутиламидофосфата имеют *транс*-конфигурацию.

Замена атома хлора на атом брома в положении б в одном из случаев привела к повышению антипролиферативной активности: в концентрации 10^{-4} М амидофосфат (XII) вызвал 60.8% торможения включения [^3H]Т, тогда как амидофосфат (XI) был неактивен. В другом случае оба амидофосфата (VI, VIII) проявили активность ниже заданного критерия. Таким образом, влияние природы галогена, в том числе алкилирующей способности галоидметильной группы, не носит определяющего характера. Природа 1,2-О-алки-

Таблица 3. Выход и физико-химические характеристики амидофосфатов (III, VII, IX–XI, XIII–XIX)

Соединение	Выход, %	Т. пл., °С	R_f (система)
Дипропиламинофосфат (III)	73	84–86	0.23 (B)
Пиперидинофосфат (VII)	77	183–185	0.52 (A)
Гексагидроазепидофосфат (IX)	70	Сироп	0.50 (B)
Морфолидофосфат (X)	83	120	0.50 (A)
Морфолидофосфат (XI)	79	142–143	0.48 (A)
Бутиламинофосфат (XIIIa)	34	135–136	0.22 (B)
Бутиламинофосфат (XIIIб)	25	150–151	0.29 (B)
Бутиламинофосфат (XIV)	61	Сироп	0.63 (A)
Додециламинофосфат (XV)	60	83–84	0.60 (A)
Изопропиламинофосфат (XVIa)	70	148–150	0.24 (B)
Изопропиламинофосфат (XVIб)	15	180–182	0.31 (B)
<i>трет</i> -Бутиламинофосфат (XVII)	65	71–72	0.62 (A)
Циклогексиламинофосфат (XVIIIa)	58	215	0.42 (A), 0.18 (B)
Циклогексиламинофосфат (XVIIIб)	10	228	0.50 (B), 0.25 (B)
(2-Амидопиридин)фосфат (XIX)	30	82–84	0.71 (A), 0.53 (B)

лиденовой защиты также не оказывает определяющего влияния на активность.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ^1H -ЯМР регистрировали на приборе Bruker AM-400 (внутренний стандарт – Me_4Si). Для тонкослойной хроматографии использовали пластины Silufol UV-254, для колоночной хроматографии – силикагель L 40/100 и 100/160 мкм. Применяли системы растворителей: бензол–диоксан, 3 : 1 (A), гептан–диоксан, 1 : 1 (B), гептан–диоксан, 3 : 1 (B).

транс*- и *цис*-3,5-Амидоциклофосфаты 1,2-О-алкилиден-6-дезоксид-6-хлор- α -D-глюкофуранозы. К раствору 1 ммоль *цис*-3,5-хлорциклофосфата 1,2-О-алкилиден-6-дезоксид-6-хлор- α -D-глюкофуранозы, полученного по методике [2], в 10 мл свежеперегнанного метилхлорида при перемешивании и охлаждении льдом прибавляли по каплям раствор 2 ммоль соответствующего амина в 3 мл CH_2Cl_2 . Реакционную смесь перемешивали несколько часов и оставляли на ночь. По окончании реакции растворитель удаляли в вакууме, остаток растворяли в хлороформе, для удаления остатков амина промывали 1% раствором соляной кислоты до нейтральной (но не кислой) среды, сушили над хлоридом кальция, растворитель удаляли в вакууме, остаток хроматографировали на колонке с силикагелем в системе В,

* Получены смеси изомеров; минорный *цис*-изомер выделен и охарактеризован в случаях (Iб), (IVб), (XIIIб), (XVIб), (XVIIIб).

разделяя *цис*- и *транс*-изомеры амидофосфатов (табл. 3).

***транс*-3,5-Амидоциклофосфаты 1,2-О-алкилиден-6-бром-6-дезоксид- α -D-глюкофураноз.** К раствору 1 ммоль 3,5,6-бициклофосфита 1,2-О-алкилиден- α -D-глюкофуранозы, полученного по методике [1, 2], в 10 мл безводного метилхлорида в инертной атмосфере при перемешивании и охлаждении до -10°C прибавляли по каплям раствор 1 ммоль брома в 3 мл того же растворителя, перемешивали 5 мин и к полученному раствору бромфосфата добавляли по каплям раствор 2 ммоль соответствующего амина. Раствор перемешивали 3 ч при комнатной температуре, удаляли растворитель в вакууме, остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, отделяя минорный *цис*-изомер (элюент – система В). **Пиперидинофосфат (VIII):** выход 77%, сироп, R_f 0.60 (A). **Морфолидофосфат (XII):** выход 68%, т. пл. 150°C (разл.), R_f 0.60 (A).

***цис*-3,5-(β -Хлорэтил)циклофосфат 6-дезоксид-1,2-О-изопропилиден-6-хлор- α -D-глюкофуранозы (XXII).** К раствору 1 ммоль *цис*-3,5-хлорциклофосфата 6-дезоксид-1,2-О-изопропилиден-6-хлор- α -D-глюкофуранозы в 10 мл безводного метилхлорида при перемешивании и охлаждении до $0-5^\circ\text{C}$ прибавляли по каплям раствор 1 ммоль β -хлорэтанола и 1 ммоль триэтиламина в 3 мл CH_2Cl_2 . По окончании реакции растворитель удаляли в вакууме, остаток растворяли в диоксане, фильтровали от гидрохлорида триэтиламина, затем, сконцентрировав, хроматографировали на колонке с силикагелем в системе В без разделения изомеров. Выход 40%, сироп, *цис*- : *транс*- 5 : 1, R_f 0.51 (A), 0.39 (B).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Нифантьев Э.Е., Петрова И.М. // Журн. общ. химии. 1970. Т. 40. С. 2196–2199.
2. Kochetkov N.K., Nifantsev E.E., Koroteev M.P., Zhane Z.K., Borisenko A.A. // Carbohydr. Res. 1976. V. 47. P. 221–231.
3. Хребтова С.Б., Коротеев М.П., Нифантьев Э.Е. // Журн. общ. химии. 1994. Т. 64. С. 1846–1847.
4. Нифантьев Э.Е., Коротеев М.П., Хребтова С.Б., Пугашова Н.М., Назаров А.А., Бельский В.К., Сташ А.И. // Докл. АН. 1995. Т. 345. С. 71–74.
5. Хребтова С.Б., Коротеев М.П., Пугашова Н.М., Беккер А.Н., Бельский В.К., Сташ А.И., Назаров А.А., Игнатенко А.В., Нифантьев Э.Е. // Журн. общ. химии. 1996. Т. 66. С. 752–757.
6. Коротеев М.П., Хребтова С.Б., Беккер А.Р., Пугашова Н.М., Бельский В.К., Зотов А.Ю., Нифантьев Э.Е. // Журн. общ. химии. 1996. Т. 66. С. 1615–1628.
7. Зинченко В.П., Коротеев М.П., Нифантьев Э.Е., Кочетков Н.К. // Докл. АН СССР. 1987. Т. 297. С. 1482–1485.
8. 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., Мареникова С.С. // Биоорг. химия. 1985. Т. 11. С. 1248–1252.

Synthesis and Biological Properties of 3,5-Cyclic Phosphates and Phosphoramides of 1,2-O-Alkylidene-6-deoxy-6-halogeno- α -D-glucofuranoses

M. P. Koroteev*, N. M. Pugashova*, S. B. Khrebtova*, E. E. Nifantsev*,
O. S. Zhukova**, T. P. Ivanova**, N. M. Peretolchina**, and G. K. Gerasimova**

*Moscow State Pedagogical University, Chemical Faculty,
Nesvizhskii per. 3, Moscow, 119021 Russia

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

Abstract—3,5-Cyclic phosphates and phosphoramides of 6-halogenated glucofuranoses were synthesized via interaction of 3,5,6-bicyclophosphites of 1,2-O-alkylidene- α -D-glucofuranoses with halogens (followed by treatment with nucleophilic reagents) and N-chloroamines. 3,5-Cyclic *trans*-dibutylphosphoramides of 6-chloro-6-deoxy-1,2-O-isopropylidene- and 6-chloro-6-deoxy-(*R*)-(2,2,2)-trichloroethylidene)- α -D-glucofuranoses were shown to possess antiproliferative activity against CaOv human ovarian carcinoma cells *in vitro* (CE₅₀ of $\sim 10^{-5}$ M). Cyclic *trans*-dibutylphosphoramide of 6-chloro-6-deoxy-1,2-O-isopropylidene- α -D-glucofuranose also displayed marked antitumor effect on P-388 transplantable murine leukemia *in vivo* (the maximum increase in life span of 100% was reached at the quintuple injection of 100 mg/kg daily).

Key words: glucose 3,5-cyclic phosphates, synthesis, cytotoxicity, antitumor activity.