



УДК 547.854.4'455.542.057:615.012.1

ЭФФЕКТИВНЫЙ СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ 3'-АМИНО-3'-ДЕЗОКСИТИМИДИНА

© 2005 г. К. В. Серёгин[#], М. В. Чудинов, А. М. Юркевич, В. И. Швец*Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова,
117571, Москва, просп. Вернадского, 86*

Поступила в редакцию 20.04.2004 г. Принята к печати 10.06.2004 г.

Предложен эффективный метод восстановления 3'-азидо-3'-дезокситимидина и его 5'-защищенных производных до 3'-аминопроизводных тимидина на палладиевом катализаторе с использованием формиата аммония как источника водорода.

Ключевые слова: 3'-азидо-3'-дезокситимидин, модифицированные нуклеозиды.

ВВЕДЕНИЕ

Среди синтетических аналогов природных нуклеозидов 3'-амино-3'-дезокситимидин выделяется широким спектром биологической активности. Хорошо известны его антинеопластические свойства, показанные, например, на клеточной линии L1210 мышшиной лейкемии [1], клеточных линиях лимфобластоидных лейкемий CCRF-HSB-2 и KB [2]. Обнаружено, что 3'-амино-3'-дезокситимидин является одним из основных метаболитов 3'-азидо-3'-дезокситимидина, образуясь, вероятно, в клетках печени путем восстановления цитохромом P-450 [3–5]. 3'-Амино-3'-дезокситимидин обладает сильным цитотоксическим действием [3–5], а также является ингибитором транспорта тимидина в эритроциты [6]. Сам по себе аминотимидин ввиду высокой токсичности в медицинских целях не применяется, однако поиски потенциальных фармакофоров в ряду его производных велись довольно широко [7–9].

3'-Амино-3'-дезокситимидин можно использовать как строительный блок для синтеза олигонуклеотидов с азотсодержащими межнуклеотидными линкерами [10–12], для введения метки при секвенировании ДНК [13] и для прикрепления к носителю в твердофазном синтезе олигонуклеотидов, содержащих 3'-терминальную аминогруппу [14, 15].

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В настоящее время описаны два типа подходов к получению 3'-амино-3'-дезокситимидина: синтезы с восстановлением 3'-азидо-3'-дезокситимидина [7–9, 16–24] и синтезы, идущие через алкили-

рование различных азотсодержащих соединений 3'-сульфонатными производными тимидина [25]. Восстановление азидогруппы более эффективно и используется гораздо чаще.

Среди способов превращения азидогруппы в аминогруппу самым распространенным является каталитическое восстановление водородом на платиновом или палладиевом катализаторе. Эта реакция проводилась в различных растворителях и при разном давлении водорода с выходами от 51 до 90% [16–20]. Среди других методик – восстановление SnCl_2 в метаноле, дающее продукт с выходом 85%, восстановление в системе $(\text{SnCl}_2\text{-PhSH-Et}_3\text{N})$ в ацетонитриле (85%) [21], радикальное восстановление с помощью Bu_3SnH [22], восстановление NaBH_4 (93%) [7], тиолами – β -меркаптоэтанолом (46%) [8] или дитиотреитом (96%) [9]; также в литературе упоминалось о восстановлении трифенилфосфином, прикрепленным к полимерной подложке (70%) [23]. Более подробные сведения о методах восстановления азидонуклеозидов в аминонуклеозиды можно найти в обзорной статье [24].

Предлагаемый нами способ синтеза 3'-амино-3'-дезокситимидина каталитическим восстановлением 3'-азидо-3'-дезокситимидина на палладиевом катализаторе с использованием формиата аммония как источника водорода дает почти количественный выход (97–98%), но время реакции значительно меньше, чем в самом эффективном из перечисленных методов – восстановлении дитиотреитом. Необходимо отметить, что процедура выделения продукта реакции также упрощена.

При восстановлении 5'-защищенных производных азидотимидина с защитными группами ацильного типа (**1б**)–(**1r**) были достигнуты почти количественные выходы. Для производных с защитными группами тритильного типа (**1д**)–(**1e**) выходы

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 434-71-46; эл. почта: kirill_7743@comail.ru).

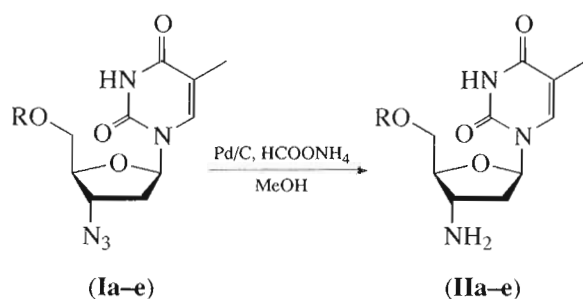
были несколько ниже (70–80%), вероятно, из-за частичного отщепления этих защитных групп в условиях реакции.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали 3'-азидо-3'-дезокситимидин (**Ia**) ("Ассоциация АЗТ", Россия), формиат аммония (Riedel de Haen, Германия), 10% палладий на угле (Lancaster, Великобритания), пивалоилхлорид (Merck, Германия), тритилхлорид, 4,4'-диметокситритилхлорид (Acros, Бельгия), остальные реактивы и растворители – отечественного производства марки "ч. д. а." или "х. ч.". 3'-Азидо-5'-ацетил-3'-дезокситимидин (**Iв**) синтезировали по методике [26], 3'-азидо-5'-бензоил-3'-дезокситимидин (**Iг**) – по методике [27].

ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck, Германия) в системах: хлороформ–метанол, 9 : 1 (**A**), хлороформ–метанол, 19 : 1 (**B**), хлороформ–этилацетат, 3 : 1 (**B**) и в хлороформе (**Г**); пятна визуализировали раствором нингидрина и УФ-облучением (254 нм). Для колоночной хроматографии использовали силикагель Kieselgel 60 (Merck, Германия).

¹H-ЯМР-спектры регистрировали в дейтерированных растворителях с тетраметилсиланом в качестве внутреннего стандарта на спектрометре Bruker MSL-200 (рабочая частота 200.13 МГц). Мультиплетность сигналов (δ, м. д.) обозначена: с – синглет, д – дублет, т – триплет, м – мультиплет, константы спин-спинового расщепления *J* приведены в герцах.



	R'
а)	H
б)	Piv
в)	Ac
г)	Bz
д)	Tr
е)	(MeO) ₂ Tr

Схема.

3'-Амино-3'-дезокситимидин (IIa). К 120 мл раствора 5 г (19 ммоль) 3'-азидо-3'-дезокситимидина (**Ia**) в абсолютном метаноле добавили 0.5 г 10% палладия на угле, 7.18 г (114 ммоль) формиата аммония и перемешивали при комнатной температуре. Контроль за ходом реакции осуществляли с помощью ТСХ в системе **A**. Через 2 ч после прекращения выделения газа удалили катализатор фильтрованием через слой целита, остаток многократно промыли метанолом. Затем удалили в вакууме растворитель, остаток сушили в вакууме (0.1 мм рт. ст., 2 ч). Выход 4.42 г (98%). ¹H-ЯМР (CDCl₃–CD₃OD, 4 : 1): 7.58 (1 H, д, *J* 1.2, H6), 5.98 (1 H, дд, *J*₁ 5.2, *J*₂ 6.8, H1'), 3.57–3.73 (3 H, м, H4', H5'), 3.54 (1 H, м, H3'), 1.96–2.20 (2 H, м, H2'), 1.79 (3 H, д, *J* 1.2, 5-CH₃). Найдено, %: С 49.64, N 17.11, H 6.53. C₁₀H₁₅N₃O₄. Вычислено, %: С 49.79, N 17.42, H 6.27.

3'-Азидо-5'-О-пивалоил-3'-дезокситимидин (Iб). К раствору 2 г (7.41 ммоль) 3'-азидо-3'-дезокситимидина (**Ia**) в 10 мл сухого пиридина, охлаждаемому на водяной бане, добавили 1.56 мл (12.59 ммоль) пивалоилхлорида, раствор перемешивали 12 ч при комнатной температуре до завершения реакции (контроль ТСХ, система **B**), разбавили 50 мл воды и экстрагировали 40 мл этилацетата. Органическую фазу промыли 4% соляной кислотой и высушили над Na₂SO₄. Растворитель удалили в вакууме. Твердый белый остаток высушили в вакууме (0.1 мм рт. ст., 1.5 ч). Выход 1.99 г (76.51%). ¹H-ЯМР (CDCl₃): 8.49 (1 H, уш. с, NH), 7.21 (1 H, уш. с, H6), 6.12 (1 H, т, *J* 6.5, H1'), 4.52 (2 H, м, H5'), 4.31 (1 H, м, H4'), 4.19 (1 H, м, H3'), 2.44 (2 H, м, H2'), 1.69 (3 H, с, 5-CH₃), 1.21 (9 H, с, пивалоил). Найдено, %: С 50.95, N 19.82, H 6.05. C₁₅H₂₁N₃O₅. Вычислено, %: С 51.28, N 19.93, H 6.02.

3'-Азидо-5'-О-третил-3'-дезокситимидин (Iд). К раствору 0.1 г (0.37 ммоль) 3'-азидо-3'-дезокситимидина (**Ia**) в 10 мл сухого пиридина добавили 0.18 г (0.63 ммоль) третилхлорида. Раствор перемешивали ночь при 45°C до завершения реакции (контроль ТСХ, система **B**), вылили в 100 мл ледяной воды, отфильтровали осадок, высушили его в вакууме (10 мм рт. ст., 12 ч) и кристаллизовали из толуола. Светло-желтый мелкокристаллический осадок сушили в вакууме (10 мм рт. ст., 12 ч). Выход 0.18 г (95%). *T*_{пл} 103–104°C. ¹H-ЯМР (CDCl₃): 8.62 (1 H, уш. с, NH), 7.41–7.18 (15 H, м, третил), 7.17 (1 H, уш. с, H6), 6.16 (1 H, т, *J* 6.5, H1'), 4.60 (2 H, м, H5'), 4.33 (1 H, м, H4'), 4.19 (1 H, м, H3'), 2.44 (2 H, м, H2'), 1.67 (3 H, с, 5-CH₃). Найдено, %: С 68.01, N 13.50, H 5.31. C₂₉H₂₇N₃O₄. Вычислено, %: С 68.36, N 13.74, H 5.34.

3'-Азидо-5'-О-(4,4'-диметокситритил)-3'-дезокситимидин (Iе). К раствору 2.76 г (10.22 ммоль) 3'-азидо-3'-дезокситимидина (**Ia**) в 70 мл сухого пиридина добавили 4.16 г (12.27 ммоль) 4,4'-диметокситритилхлорида. Реакционную массу пере-

мешивали 18 ч при 45°C до завершения реакции (контроль ТСХ, система А). К смеси добавили 50 мл метанола и растворитель удалили в вакууме. Остаток распределили между CH_2Cl_2 (100 мл) и водой (100 мл). Органический слой промыли 5% раствором Na_2CO_3 (70 мл), высушили над Na_2SO_4 и растворитель удалили в вакууме. Остаток кристаллизовали из толуола. Бело-розовый аморфный осадок сушили в вакууме (10 мм рт. ст., 12 ч). ^1H -ЯМР (CDCl_3): 11.1 (1 H, с, NH), 6.95–7.70 (14 H, м, тритил и H6), 6.12 (1 H, т, J 6.2, H1'), 4.56 (2 H, м, H5'), 4.28 (1 H, м, H4'), 4.15 (1 H, м, H3'), 3.60 (6 H, с, CH_3O), 2.22 (2 H, м, H2'), 1.72 (3 H, с, 5- CH_3). Выход 4.95 г (84.97%). Найдено, %: С 65.01, N 12.27, H 5.51. $\text{C}_{31}\text{H}_{31}\text{N}_5\text{O}_6$. Вычислено, %: С 65.37, N 12.30, H 5.49.

3'-Амино-5'-О-пивалоил-3'-дезокситимидин (IIб). К раствору 1 г (2.84 ммоль) 3'-азидо-5'-О-пивалоил-3'-дезокситимидина (IIб) в 12 мл абсолютного метанола внесли 100 мг 10% палладия на угле. К смеси добавили формиат аммония (1.07 г, 17.04 ммоль) и нагрели до кипения (контроль ТСХ, система Г). Через 2.5 ч удалили катализатор фильтрованием через слой силикагеля (0.5 см), остаток многократно промыли метанолом, растворитель удалили в вакууме. Выход 0.9 г (97%). ^1H -ЯМР (CDCl_3): 11.3 (1 H, уш. с, NH), 7.43 (1 H, уш. с, H6), 6.11 (1 H, т, J 6.2, H1'), 4.36–4.65 (2 H, м, H5'), 4.14 (1 H, м, H4'), 3.75 (1 H, м, H3'), 2.12–2.38 (2 H, м, H2'), 1.70 (3 H, д, J 1.2, 5- CH_3), 1.18 (9 H, с, пивалоил). Найдено, %: С 54.69, N 16.11, H 7.29. $\text{C}_{15}\text{H}_{23}\text{N}_3\text{O}_5$. Вычислено, %: С 55.37, N 12.91, H 7.13.

3'-Амино-5'-О-ацетил-3'-дезокситимидин (IIв) получали аналогично соединению (IIб) из 0.3 г 3'-азидо-5'-О-ацетил-3'-дезокситимидина (IIв). Выход 0.26 г (95%). ^1H -ЯМР (CDCl_3 - CD_3OD , 4 : 1): 7.56 (1 H, уш. с, H6), 6.18 (1 H, т, J 6.2, H1'), 4.17–4.29 (2 H, м, H5'), 3.91 (1 H, м, H4'), 3.78 (1 H, м, H3'), 2.65 (3 H, с, Ac), 2.11–2.28 (2 H, м, H2'), 1.76 (3 H, д, J 1.2, 5- CH_3). Найдено, %: С 49.95, N 14.50, H 6.51. $\text{C}_{12}\text{H}_{17}\text{N}_3\text{O}_5$. Вычислено, %: С 50.88, N 14.83, H 6.05.

3'-Амино-5'-О-бензоил-3'-дезокситимидин (IIг) получали аналогично соединению (IIб) из 0.25 г 3'-азидо-5'-О-бензоил-3'-дезокситимидина (IIг). Выход 0.22 г (97%). ^1H -ЯМР ($\text{DMSO}-d_6$): 11.9 (1 H, уш. с, NH), 8.03 (м), 7.61 (м), 7.48 (м) (5 H, Bz), 7.31 (1 H, уш. с, H6), 6.20 (1 H, т, J 6.2, H1'), 4.43–4.81 (2 H, м, H5'), 4.17 (1 H, м, H4'), 3.77 (1 H, м, H3'), 2.4 (2 H, м, H2'), 1.68 (3 H, уш. с, 5- CH_3). Найдено, %: С 58.55, N 11.87, H 5.84. $\text{C}_{17}\text{H}_{19}\text{N}_3\text{O}_5$. Вычислено, %: С 59.12, N 12.17, H 5.55.

3'-Амино-5'-О-третил-3'-дезокситимидин (IIд) получали аналогично соединению (IIб) из 0.15 г 3'-азидо-5'-О-третил-3'-дезокситимидина (IIд). Продукт реакции дополнительно очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюент – этилацетат). Выход 0.11 г (76%). ^1H -ЯМР (CDCl_3):

11.2 (1 H, с, NH), 7.42 (м), 7.33 (м), 7.26 (м) (16 H, тритил и H6), 6.10 (1 H, т, J 6.2, H1'), 4.58 (2 H, м, H5'), 4.05 (1 H, м, H4'), 3.48 (1 H, м, H3'), 2.25 (2 H, м, H2'), 1.64 (3 H, д, J 1.2, 5- CH_3). Найдено, %: С 70.11, N 8.38, H 6.23. $\text{C}_{29}\text{H}_{29}\text{N}_3\text{O}_4$. Вычислено, %: С 72.03, N 8.69, H 6.04.

3'-Амино-5'-О-(4,4'-диметокситритил)-3'-дезокситимидин (IIе) получали аналогично соединению (IIб) из 0.28 г 3'-азидо-5'-О-(4,4'-диметокситритил)-3'-дезокситимидина (IIе). Продукт реакции дополнительно очищали колоночной хроматографией на силикагеле (элюент – этилацетат). Выход 0.19 г (71%). ^1H -ЯМР (CDCl_3): 11.1 (1 H, с, NH), 6.95–7.70 (14 H, м, тритил и H6), 6.11 (1 H, т, J 6.2, H1'), 4.56 (2 H, м, H5'), 4.08 (1 H, м, H4'), 3.59 (6 H, с, CH_3O), 3.47 (1 H, м, H3'), 2.24 (2 H, м, H2'), 1.67 (3 H, д, J 1.2, 5- CH_3). Найдено, %: С 67.75, N 6.89, H 6.44. $\text{C}_{31}\text{H}_{33}\text{N}_3\text{O}_6$. Вычислено, %: С 68.49, N 7.73, H 6.12.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Lin T.S., Prusoff W.H. // J. Med. Chem. 1978. V. 21. P. 109–112.
2. Ashida N., Asano S., Kohda K. // Anticancer Res. 1994. V. 14. P. 2061–2062.
3. Cretton E.M., Sommadossi J.P. // Drug Metab. Dispos. 1993. V. 21. P. 946–950.
4. Eagling V.A., Howe J.L., Barry M.J., Back D.J. // Biochem. Pharmacol. 1994. V. 48. P. 267–276.
5. Pan-Zhou X.R., Cretton-Scott E., Zhou X.J., Yang M.X., Lasker J.M., Sommadossi J.P. // Biochem. Pharmacol. 1998. V. 55. P. 757–766.
6. Zimmerman T.P., Domin B.A., Mahony W.B. // Oncol. Res. 1993. V. 5. P. 483–487.
7. Celewicz L., Urjasn W., Golankiewicz K. // Nucleosides Nucleotides. 1993. V. 12. P. 951–966.
8. Шаркин Ю.А., Ясько М.В., Скоблов А.Ю., Александрова Л.А. // Биооргани. химия. 1996. Т. 22. С. 297–302.
9. Handlon A.L., Oppenheimer N.J. // Pharm. Res. 1988. V. 5. P. 297–299.
10. Sato K., Seio K., Sekine M. // Nucleic Acids Res. Suppl. 2001. V. 29. P. 121–122.
11. Nawrot B., Boczkowska M., Wojcik M., Sochacki M., Kazmierski S., Stec W. // Nucleic Acids Res. 1998. V. 26. P. 2650–2658.
12. Gryaznov S.M. // Biochim. Biophys. Acta. 1999. V. 1489. P. 131–140.
13. Zehl A., Cech D. // Libigs Ann. 1997. № 3. P. 595–600.
14. Gryaznov S.M., Letsinger R.L. // Tetrahedron Lett. 1993. V. 34. P. 1261–1264.
15. Gryaznov S.M., Letsinger R.L. // Nucleic Acids Research. 1992. V. 20. P. 3403–3409.
16. Matsuda A., Satoh M., Ueda T. // Nucleosides Nucleotides. 1990. V. 9. P. 587–597.
17. Krenitsky T., Freeman G., Shaver S., Beacham III L., Hurlbert S. // J. Med. Chem. 1983. V. 26. P. 891–895.

18. Hampton A., Kappler F., Chawla R. // *J. Med. Chem.* 1979. V. 22. P. 621–631.
19. Chu C., Schinazi R., Ahn M., Ullas G., Gu Z. // *J. Med. Chem.* 1989. V. 32. P. 612–617.
20. Wigerinck P., van Aerschot A., Janssen G., Claes P. // *J. Med. Chem.* 1990. V. 33. P. 868–873.
21. Costa A., Faja M., Farras J., Vilarrasa J. // *Tetrahedron Lett.* 1998. V. 39. P. 1835.
22. Maillard M., Faraj A., Frappier F., Florent J.-C., Grierson D., Monneret C. // *Tetrahedron Lett.* 1989. V. 30. P. 1955–1958.
23. Schoetzau T., Holletz T., Cech D. // *Chem. Commun.* 1996. № 3. P. 387.
24. Pathak T. // *Chem. Rev.* 2002. V. 102. P. 1623–1667.
25. Miller N., Fox J. // *J. Org. Chem.* 1964. V. 29. P. 1772–1776.
26. Зайцева В.Е., Дяткина Н.Б., Краевский А.А., Скапцова Н.В., Турина О.В., Гнучев Н.В., Готтих Б.Н., Ажаев А.В. // *Биоорганическая химия.* 1984. Т. 10. С. 670–680.
27. Wigerinck P., van Aerschot A., Janssen G., Claes P., Balzarini J., De Clercq E. // *J. Med. Chem.* 1990. V. 33. P. 868–873.

An Efficient Synthesis of 3'-Amino-3'-Deoxythymidine Derivatives

K. V. Seregin[#], M. V. Chudinov, A. M. Yurkevich, and V. I. Shvets

[#]Phone: +7 (095) 434-7146; e-mail: kirill_7743@comail.ru
 Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology,
 pr. Vernadskogo 86, Moscow, 117571 Russia

An efficient method of reduction of 3'-azido-3'-deoxythymidine and its 5'-protected derivatives to 3'-aminothymidine derivatives on a palladium catalyst using ammonium formate as a source of hydrogen was suggested. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2005, vol. 31, no. 2; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: 3'-azido-3'-deoxythymidine, modified nucleosides