



УДК 547.853'461.4.07

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ ЭФИРОВ ЯНТАРНОЙ КИСЛОТЫ
И 6-АЗАУРИДИНА*Толкачев В. Н., Гельперина С. Э., Ярцева И. В.,
Преображенская М. Н.**Всероссийский онкологический научный центр
Академии медицинских наук СССР, Москва*

Взаимодействием 6-азауридина с бензиловым эфиром янтарной кислоты в присутствии N,N' -дициклогексилкарбодимида и *n*-толуолсульфокислоты в пиридине получены моно-, ди- и три-*O*-3-бензилоксикарбонилпропионил-6-азауридины. Подобраны условия для преимущественного образования моно- или трипропионидных. При гидрогенолизе смеси изомерных моно-*O*-3-бензилоксикарбонилпропионидных производных над Pd/C в уксусной кислоте или этаноле получены *O*-гемисукцинаты 6-азауридина. При гидрогенолизе *O*-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридинов в метаноле получены лабильные *O*-(3-метилоксикарбонилпропионил)-6-азауридины. С помощью ПМР-спектроскопии показано, что монозамещенные гемисукцинаты 6-азауридина и их эфиры представляют собой смеси 5', 3'- и 2'-изомеров в соотношении ~4:2:1. Моногемисукцинаты 6-азауридина использованы для получения конъюгатов с эстроном.

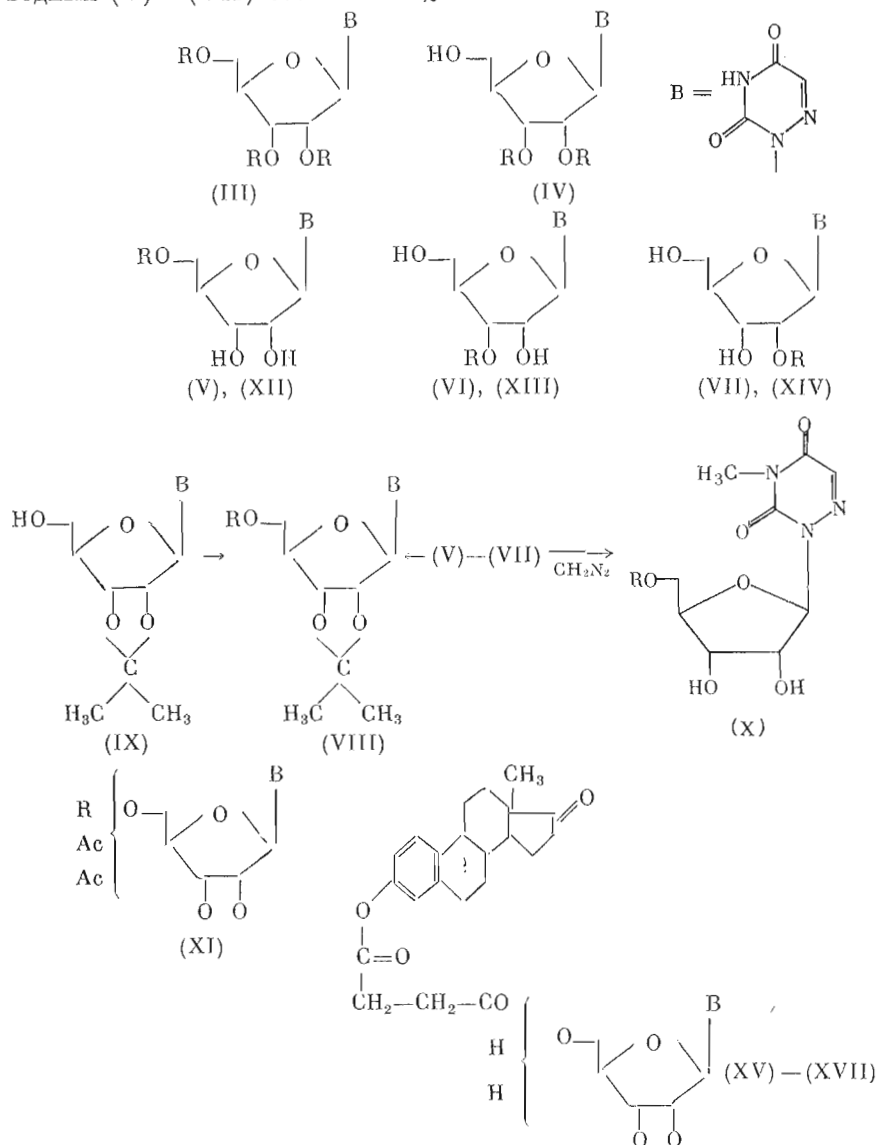
Эфиры янтарной кислоты и биологически активных соединений широко используются для получения растворимых производных, иммобилизации на различных носителях при аффинной хроматографии и для получения конъюгатов с белками, полисахаридами, стероидами и другими соединениями. В связи с этим изучение гемисукцинатов природных нуклеозидов и их аналогов представляет несомненный интерес. Методы введения остатка янтарной кислоты в молекулу нуклеозидов мало изучены. Описан синтез 5'-*O*-гемисукцината 1- β -*D*-арабинофуранозилцитозина при взаимодействии хлоргидрата арабинозилцитозина с хлорангидридом трихлорэтилового эфира янтарной кислоты с последующим удалением защитной группы цинком в уксусной кислоте [1]. Гемисукцинаты N' -ацильных производных арабинозилцитозина, а также производных уридина и 2'-дезоксисуридина были получены из соответствующих нуклеозидов и янтарного ангидрида [2].

Целью нашей работы было получение *O*-гемисукцинатов известного противоопухолевого препарата — 6-азауридина и изучение возможности их присоединения к стероидным гормонам.

При взаимодействии 6-азауридина или тимидина с янтарным ангидридом в диметилформамиде при нагревании до 80°С в условиях, описанных в работе [2], гемисукцинаты нуклеозидов не образуются. При проведении реакции в автоклаве при 180°С образуется сложная, трудноразделимая смесь продуктов реакции. Мы изучили возможность получения гемисукцинатов 6-азауридина с использованием N,N' -дициклогексилкарбодимида в присутствии сильных кислот по методу [3]. При взаимодействии эквивалентных количеств 6-азауридина (I) и монобензилового эфира янтарной кислоты (II) в пиридине при 20°С в течение 40—48 ч в присутствии N,N' -дициклогексилкарбодимида и каталитических количеств *n*-толуолсульфокислоты образуется сложная смесь веществ. С помощью хроматографии на колонке с силикагелем из смеси выделили 2',3',5'-три-*O*-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридин (III), смесь дизамещенных производных 6-азауридина с преобладанием 2',3'-ди-*O*-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридина (IV) и смесь 2', 3'- и 5'-*O*-(3-бензилоксика-

Принятые сокращения: DCC— N,N' -дициклогексилкарбодимид.

карбонилпропионил)-6-азауридинов (V)–(VII), в которой преобладающим является 5'-изомер (V) (см. схему). Суммарный выход соединений (III)–(VII) составил 58%. При изменении соотношения реагентов были получены преимущественно моно- или три-О-замещенные производные 6-азауридина. Так, при пятикратном избытке монобензилового эфира янтарной кислоты основным продуктом реакции является три-О-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридин (III), который был выделен с выходом 84%, а при двукратном избытке 6-азауридина выход монопроизводных (V)–(VII) составил 62%.



(III)–(XI) $\text{R} = \text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{COOCH}_2\text{C}_6\text{H}_5$
 (XII)–(XIV) $\text{R} = \text{CO}(\text{CH}_2)_2\text{COOH}$

Строение полученных соединений изучено с помощью ПМР-спектроскопии (см. таблицу).

По данным спектра ПМР, в котором с помощью двойного резонанса удалось осуществить отнесение всех сигналов, полученный моно-О-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридин является смесью трех изомеров: (V)–(VII). Рассмотрение интегральных интенсивностей сигналов показало, что соотношение изомеров (V)–(VI)–(VII) составляет $\sim 4 : 2 : 1$. Положение 3-бензилоксикарбонилпропионильных групп установлено при сопоставлении химических сдвигов протонов углеводного цикла в соедине-

Спектры ПМР синтезированных суцинатных производных 6-азауридина
(химические сдвиги, δ , м.д. (J , Гц) ^{1*})

Соединение	3-Н	1'-Н($J_{1'}$, 2')	2'-Н($J_{2'}$, 3')	3'-Н($J_{3'}$, 4')	4'-Н($J_{4'}$, 5'a)	5'a-Н($J_{4'}$, 5'б)	5'б-Н($J_{5'a}$, 5'б)	C ₆ H ₅	CH ₂ C ₆ H ₅	CN ₂
(I)	7,41	6,05(3,2)	4,40(5,4)	4,22(5,4)	3,95(3,5)	3,71(5,4)	3,58(11,6)	7,30	5,11	2,64-2,69
(II)	7,54	6,19	5,06	4,94	4,69	4,27	4,16	7,33	5,14	2,80-2,72
(III)	7,44	6,34(3,2)	5,77(5,6)	5,34(5,6)		4,44-4,08			5,16	
	7,58	6,73(3,2)	6,11	5,84		4,75-4,20			5,18	
(IV)	7,41	6,19(3,4)	5,68(5,2)	5,46(5,3)	4,11	3,63	3,63	7,28	5,05	2,62
(V)	7,40	6,05(3,4)	4,37(5,6)	4,22	4,13-4,02 ^{2*}	4,34	4,13-4,02 ^{2*}	7,30	5,07	2,63
(VI)	7,40	6,05	4,68	5,20	4,10	3,66	3,63-3,54	7,30	5,10	2,79-2,67
(VII)	7,42	6,14(3,0)	5,43(4,0)	4,43	3,93	3,75	3,63-3,54	7,30	5,08	2,79-2,67
(VIII)	7,38	6,26(1,6)	5,04(6,0)	4,76(3,0)	4,66	4,50-4,04		7,31	5,11	2,64
(IX)	7,60	6,74(1,6)	5,28(6,2)	5,12(3,0)			3,99			
(X)	7,49	6,12(3,0)								
(XI) ^{3*}	7,58	6,70(1,5)		5,80	4,50-4,00	4,80-4,20		7,30	5,09	2,63
(XII)	7,47	6,08(3,5)	4,40(5,0)	4,25(5,0)		4,20-4,07		7,32	5,15	2,74
(XIII)	7,47	6,08	4,70(4,2)	5,23(3,1)	4,13(3,9)	3,72	3,65-3,57(12,3)			2,60
(XIV)	7,41	6,16(2,9)	5,44(5,7)	4,45(6,5)	3,93(3,4)	3,77	3,65-3,57(12,4)			2,65
(XV) ^{4*}	7,38	6,06	4,35	4,23	4,20-4,08 ^{2*}	4,37	4,20-4,08 ^{2*}			3,0-2,8 ^{5*}
(XVI) ^{4*}	7,42	6,06	4,70	5,25	4,20-4,08	3,69	3,67-3,52			3,0-2,8 ^{5*}
(XVII) ^{4*}	7,36	6,16(3,0)	5,46(5,2)	4,45	3,92	3,75	3,67-3,52			3,0-2,8 ^{5*}

^{1*} Вторые спектры соединений (I) и (III), а также спектры соединений (IX) и (XI) сняты в C₆D₆N, спектр соединения (VIII) — в CDCl₃; прочие — в CD₃OD.

^{2*} Сигналы перекрываются.

^{3*} Смесь двух изомеров (приведен спектр основного изомера).

^{4*} Эстроновая часть производных (XV) — (XVII) дает следующие дополнительные сигналы: 7,30-7,22 м (1-Н), 6,87-6,74 м (2-Н и 4-Н), 0,92 с (CN). Для сравнения приведен ПМР-спектр эстрона, снятый в CD₃OD при 360 МГц (δ , м.д.): 7,08 д (1Н, 1-Н, J_{1,2} 8,4 Гц), 6,58 д (1Н, 2-Н, J_{2,3} 2,6 Гц), 6,53 д (1Н, 4-Н), 0,92 с (3Н, CN).

^{5*} Сигналы перекрываются с сигналами алициклических протонов остатка эстрона.

ниях (V) — (VII) с соответствующими сигналами в 6-азауридине. Так, в 5'-О-изомере (V) сигналы протонов 5'а и 5'б смещены в слабое поле на 0,63 и 0,45 м.д. соответственно, а химические сдвиги 2'-Н и 3'-Н практически совпадают. Аналогично сделано отнесение для соединений (VI) и (VII). В 3'-О-изомере (VI) значительный слабопольный сдвиг претерпевает сигнал 3'-Н ($\Delta 3'-\text{H}=0,98$ м.д.), а в 2'-О-изомере — 2'-Н ($\Delta 2'-\text{H}=1,03$ м.д.).

При обработке смеси изомеров (V), (VI) и (VII) метилизопропиленовым эфиром в присутствии эфирата трехфтористого бора и окиси ртути с выходом 29% был получен 5'-О-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-2',3'-изопропилиден-6-азауридин (VIII). Это подтверждает присутствие изомера (V) в смеси монопроизводных 6-азауридина. Соединение (VIII) было получено также встречным синтезом из 2',3'-изопропилиден-6-азауридина (IX) и монобензильного эфира янтарной кислоты в присутствии N,N'-дихлоргексилкарбодиимида и *n*-толуолсульфокислоты с выходом 22%. При обработке изомерных моно-О-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридинов диазометаном после препаративной ТСХ с выходом 45% был выделен N³-метил-5'-О-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридин (X). Это вещество, по данным спектра ПМР, является индивидуальным 5'-О-изомером, место замещения подтверждается слабопольным сдвигом на 0,3—0,4 м.д. сигнала протона при C5' углеводного кольца по сравнению с незамещенным 6-азауридином.

После обработки смеси изомеров (V) — (VII) уксусным ангидридом в пиридине было выделено ди-О-ацетильное производное, которое, на основании спектров ПМР, является смесью двух О-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-ди-О-ацетил-6-азауридинов (XI), соотношение которых составляло ~2 : 1. Данные спектра ПМР основного изомера (XI) приведены в таблице.

В смеси ди-О-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридинов преобладающим является 2',3'-О-изомер (IV). Замещение 2'- и 3'-положений 6-азауридина следует из слабопольного смещения (на 1,28 и 1,24 м.д.) соответствующих сигналов протонов при C2' и C3' по сравнению с незамещенным 6-азауридином. Содержание изомерных примесей менее 5%.

В пользу полного замещения гидроксильных групп в три-О-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридине (III) свидетельствует интегральная интенсивность сигнала метиленовых протонов сукцинатных остатков и смещение в слабое поле сигналов протонов углеводного цикла.

При гидрогенолизе моно-О-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридинов в уксусной кислоте или этаноле происходит удаление бензильной группы и образуется гемисукцинат 6-азауридина, выделенный с количественным выходом; по данным ПМР-спектров, он является смесью 5'-О- (XII), 3'-О- (XIII) и 2'-О-гемисукцината (XIV) 6-азауридина в соотношении 4 : 2 : 1. В спектре ПМР соединения (XII), снятом в DMSO, присутствует сигнал протона карбоксильной группы при 12,15 м.д. Спектры ПМР моно-О-гемисукцинатов 6-азауридина и их моно-О-бензильных производных сходны друг с другом по химическим сдвигам сигналов протонов нуклеозида, характеру их мультиплетности и соотношению интегральных интенсивностей, что свидетельствует о том, что в обоих случаях имеются смеси изомеров однотипного замещения, т. е. при гидрогенолизе их состав существенно не изменяется.

Следует отметить, что при гидрогенолизе бензилсукцинатов (III) и (V) — (VII) в метаноле были получены гидролитически неустойчивые метилсукцинаты 6-азауридина, строение которых подтверждено с помощью спектров ПМР.

Моногемисукцинаты 6-азауридина (XII) — (XIV) конденсировали с эстроном в присутствии N,N'-дихлоргексилкарбодиимида и полученный конъюгат выделили препаративной ТСХ. По данным спектров ПМР, он является смесью трех изомеров, (XV) — (XVII), в том же соотношении, что и исходные гемисукцинаты 6-азауридина, о чем свидетельствует соотношение сигналов протонов трех изомеров по азауридиновой части молекулы и усложнение характера сигналов протонов в кольцах A, B, C и D

эстро́на. Смещение в слабое поле на 0,2 м.д. сигналов ароматических протонов эстро́на по сравнению с незамещенным эстро́ном свидетельствует о замещении гидроксильной группы в положении 3 молекулы эстро́на.

Конъюгат 6-азауридина с эстро́ном представляет интерес как возможное средство направленной доставки антиметаболита к тканям (в том числе опухолевым), имеющим рецепторы к эстро́ну.

Экспериментальная часть

Чистоту соединений контролировали с помощью ТСХ на пластинах силиуфол UV₂₅₄ (ЧССР), препаративную ТСХ проводили на пластинах (20×20 см) с силикагелем марки ЛСЛ₂₅₄ (Chemapol, ЧССР) при толщине слоя 1,5 мм. Используются системы: четыреххлористый углерод — ацетон, 3:2 (А), четыреххлористый углерод — этилацетат, 1:1 (Б), четыреххлористый углерод — ацетон, 1:1 (В), *n*-бутанол — вода — этанол — уксусная кислота, 1:1:1:1 (Г), хлороформ — метанол, 10:1 (Д). Соединение (VIII) очищали четырехкратным проявлением системой растворителей, конъюгаты гемисукцинатов 6-азауридина с эстро́ном — двукратным, остальные соединения — однократным. Спектры ПМР для соединений (I), (V) — (VII), (XIV) — (XVII) измеряли на приборе Bruker WH-360 (ФРГ) при рабочей частоте 360 МГц (внутренний стандарт — тетраметилсилан), для соединений (III), (IV), (VIII), (X) — (XIII) — на приборе JNM-MH-100 (Япония) при рабочей частоте 100 МГц (внутренний стандарт — тетраметилсилан). Удельное вращение определено на поляриметре Perkin-Elmer 241.

Взаимодействие 6-азауридина с монобензиловым эфиром янтарной кислоты. 1) К раствору 1,5 г (6,1 ммоль) 6-азауридина (I) и 1,4 г (6,7 ммоль) монобензинового эфира янтарной кислоты (II) в 30 мл безводного пиридина добавляли 0,03 г *n*-толуолсульфокислоты и через 15 мин перемешивания — 1,5 г ДСС. Реакционную массу выдерживали 40 ч при 20°С, после прибавления 0,1 мл уксусной кислоты перемешивали 12 ч при 4°С. Выпавший осадок отделяли, промывали пиридином и фильтрат упаривали в вакууме. Остаток растворяли в хлороформе (150 мл), промывали водой (3×20 мл), сушили MgSO₄, фильтровали и упаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюировали хлороформом (фракции А и Б) (контроль ТСХ), затем смесью хлороформ — метанол (1:1) — фракцию В. Из фракции А после упаривания выделили 0,3 г (6%) 2',3',5'-три-*O*-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридина (III), *R*_f 0,76 (А). [α]_D²⁰ — 19,5 (с 1, метанол). Найдено, %: С 60,34; Н 5,12; N 5,41. C₄₁H₄₁N₃O₁₅. Вычислено, %: С 60,36; Н 5,07; N 5,15. Из фракции Б выделили 0,55 г (14,4%) 2',3'-ди-*O*-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридина (IV), *R*_f 0,51 (А), содержащего, по данным спектра ПМР, примесь 2',5'- и 3',5'-изомеров. Из фракции В после удаления растворителей получили 1,0 г (37,7%) продукта, хроматографически однородного в системе А (*R*_f 0,24), который, по данным спектра ПМР, является смесью 5'-*O*- (V), 3'-*O*- (VI) и 2'-*O*-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридина (VII), в соотношении ~4:2:1. Найдено, %: С 52,03; Н 4,96; N 9,51. C₁₉H₂₁N₃O₉. Вычислено, %: С 52,41; Н 4,86; N 9,65.

2) К раствору 5,0 г (20,3 ммоль) нуклеозида (I) и 2,06 г (9,9 ммоль) эфира (II) в 50 мл безводного пиридина добавляли 0,09 г *n*-толуолсульфокислоты и 2,5 г ДСС. Через 40 ч реакционную смесь обрабатывали как описано выше и хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью хлороформ — этилацетат (1:5), затем — смесью хлороформ — этилацетат (2:3). Фракции, содержащие продукт с *R*_f 0,24 в системе А, объединяли и после удаления растворителей выделяли 2,67 г (62% в расчете на эфир (II)) смеси изомеров монопроизводных (V) — (VII).

3) К раствору 2,0 г (8,1 ммоль) нуклеозида (I) и 8,5 г (40,8 ммоль) эфира (II) в 60 мл безводного пиридина прибавляли 0,1 г *n*-толуолсульфокислоты и 6,0 г ДСС. Через 48 ч реакционную массу обрабатывали как описано выше и хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя этилацетатом. После упаривания фракций, содержащих продукт с *R*_f 0,76

в системе А, получили 5,6 г (84,5% в расчете на взятый 6-азауридин) 2',3',5'-три-О-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридина (III).

5'-О-(3-Бензилоксикарбонилпропионил)-2',3'-О-изопропилиден-6-азауридин (VIII). 1) К раствору 0,5 г смеси моноэфиров (V) — (VII) в 15 мл безводного ацетона при перемешивании прибавили 0,2 мл метилизопропилового эфира и каталитические количества HgO и BF₃·Et₂O. Реакционную смесь перемешивали 24 ч при 20° С, затем вылили в 10 мл насыщенного водного раствора NaHCO₃. Осадок отфильтровывали, промыли ацетоном, фильтрат упарили в вакууме. Остаток растворили в хлороформе, промыли водой (3×5 мл), сушили MgSO₄, растворитель удалили в вакууме. Остаток хроматографировали на пластинках с силикагелем в системе Б. Из зоны с R_f 0,62—0,72 выделили 0,16 г (29,3%) соединения (VIII) [α]_D²⁰ —62,9 (с 1, хлороформ). Найдено, %: С 55,63; Н 5,24; N 8,61. C₂₂H₂₅N₃O₉. Вычислено, %: С 55,57; Н 5,30; N 8,84.

2) К раствору 0,5 г 2',3'-О-изопропилиден-6-азауридина (IX) и 0,4 г эфира (II) в 10 мл безводного пиридина прибавили каталитическое количество *n*-толуолсульфокислоты и 0,42 г DCC. Реакционную смесь выдерживали 72 ч при 20° С, затем обработали как описано выше и хроматографировали на пластинках с силикагелем в системе Б. Из зоны с R_f 0,62—0,72 выделили 0,18 г (21,6%) 5'-О-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-2',3'-О-изопропилиден-6-азауридина (VIII).

N³-Метил-5'-О-(3-бензилоксикарбонилпропионил)-6-азауридин (X). К раствору 0,5 г смеси моноэфиров (V) — (VII) в 10 мл этилацетата — метанола (4 : 1) прибавили 3 мл эфирного раствора диазометана (из 0,3 г N-нитрозометилмочевины) и перемешивали 1 ч при 20° С. Реакционную смесь упарили в вакууме, остаток хроматографировали на пластинках с силикагелем в системе В. Из зоны с R_f 0,70—0,73 выделили 0,23 г (44,6%) соединения (X).

Гемисукцинаты 6-азауридина (XII) — (XIV). Раствор 0,34 г смеси моноэфиров (V) — (VII) в 20 мл безводного этанола гидрировали в присутствии 70 мг 10% Pd/C при 20° С и атмосферном давлении в течение 5—6 ч. Фильтрат после отделения катализатора упарили в вакууме и получили 0,27 г (97,6%) хроматографически однородного в использованных системах продукта, который, по данным спектра ПМР, является смесью 5'-О- (XII), 3'-О- (XIII) и 2'-О-моногомисукцината 6-азауридина (XIV), в соотношении ~4 : 2 : 1. R_f 0,83 (Г). Найдено, %: С 40,59; Н 4,60; N 11,88. C₁₂H₁₅N₃O₉·1/2H₂O. Вычислено, %: С 40,68; Н 4,27; N 11,86.

Конъюгаты моногемисукцинатов 6-азауридина с эстроном (XV) — (XVII). К раствору 0,15 г смеси моногемисукцинатов 6-азауридина (XII) — (XIV) в 10 мл безводного пиридина прибавили 0,15 г эстрона, каталитическое количество *n*-толуолсульфокислоты и 40,2 г DCC. Реакционную смесь выдерживали 72 ч при 20° С и обрабатывали, как описано в методиках получения соединений (III) — (VII). Остаток хроматографировали на пластинках с силикагелем в системе Д. Из зоны с R_f 0,23—0,29 выделили 20 мг (6%) продукта, который представляет собой, по данным спектров ПМР, смесь трех 3-О-производных эстрона с гемисукцинатами 6-азауридина в соотношении ~4 : 2 : 1.

ЛИТЕРАТУРА

1. Okabayashi T., Mihara S., Repke D. B., Moffatt J. G. Cancer Res., 1977, v. 37, № 2, p. 616—624.
2. United States Patent (1978), 4097665.
3. Holmberg K., Hansen B. Acta chem. scand., 1979, B. 33, p. 410—412.

Поступила в редакцию
16.IV.1982
После доработки
17.V.1982

SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF 6-AZAUridINE SUCCINIC ESTERS

TOLKACHEV V. N., GELPERINA S. E., YARTSEVA I. V.,
PREOBRAZHENSKAYA M. N.

Cancer Research Center, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Interaction of 6-azauridine with benzyl succinate in the presence of dicyclohexylcarbodiimide and *p*-toluenesulfonic acid in pyridine led to mono-, di- and tri-*O*-benzylsuccinoyl-6-azauridines. Conditions were found for the preferable formation of mono- and tri-derivatives. Hydrogenolysis of the isomeric mixture of monobenzylsuccinoyl-6-azauridines over Pd/C in acetic acid or in ethanol yielded *O*-hemisuccinates of 6-azauridine. Hydrogenolysis in methanol led to unstable *O*-methylsuccinoyl-6-azauridines. It was shown on the basis of PMR data that monosubstituted hemisuccinates as well as their esters represented the mixtures of 5'-, 3'- and 2'-isomers in the proportion of 4:2:1. Monohemisuccinates of 6-azauridine were used for synthesis of estron-6-azauridine conjugate.