



УДК 547.853'455.07

## СИНТЕЗ 5'-О-ГЛЮКУРОНИДА 1-(β-D-АРАБИНОФУРАНОЗИЛ)ЦИТОЗИНА\*. ПЕРЕГЛИКОЗИЛИРОВАНИЕ ПРИ ПОПЫТКЕ СИНТЕЗА О-ГЛЮКУРОНИДА 1-(β-D-РИБОФУРАНОЗИЛ)- 1,2,4-ТРИАЗОЛКАРБОКСАМИДА

Чкаников Н. Д., Толкачев В. Н., Корнвейц М. З.,  
Преображенская М. Н.

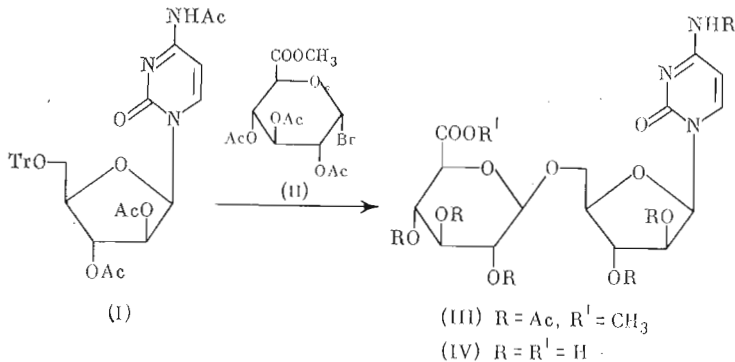
Всесоюзный онкологический научный центр  
Академии медицинских наук СССР, Москва

Конденсацией 1-(2,3-ди-О-ацетил-5-О-третил-β-D-арабинофуранозил)-N<sup>4</sup>-ацетилцитозина с метиловым эфиром 2,3,4-три-О-ацетил-1-бром-1-дезоксид-α-D-глюкопирануроной кислоты в присутствии AgClO<sub>4</sub> с последующим удалением защитных групп получен 1-[5-О-(β-D-глюкопиранозилуронат)-β-D-арабинофуранозил]цитозин, который выделен после ионообменной хроматографии в виде аммонийной соли. Взаимодействие метилового эфира 1-(2,3-ди-О-ацетил-5-О-третил-β-D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты с метиловым эфиром 2,3,4-три-О-ацетил-1-бром-1-дезоксид-α-D-глюкопирануроной кислоты в присутствии AgClO<sub>4</sub> привело к метиловому эфиру 1-[метил(2,3,4-три-О-ацетил-β-D-глюкопиранозил)уронат]-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты, который был получен также гликозиллированием гетероцикла. Строение полученных соединений установлено на основании данных ПМР-, УФ-, ИК-спектроскопии.

Одним из направлений поиска противоопухолевых препаратов, обладающих высокой избирательностью действия, является синтез О-глюкуронидов цитостатических агентов. Уровень активности β-глюкуронидазы — фермента, расщепляющего О-гликозидные связи производных глюкуроновой кислоты, в ряде опухолей человека значительно выше, чем в нормальных тканях [2]. Кроме того, существует метод избирательного повышения активности β-глюкуронидазы в опухолевых тканях [3]. О-Глюкурониды нуклеозидов-антиметаболитов представляют с этой точки зрения несомненный интерес.

Ранее мы описали синтез 5'-О-(β-D-глюкопиранозилуронат)-6-азауридина из 2',3'-ди-О-ацетил-5'-О-третил-6-азауридина и метилового эфира 2,3,4-три-О-ацетил-1-бром-1-дезоксид-α-D-глюкопирануроной кислоты (II) в присутствии AgClO<sub>4</sub> (реакция Бредерера) с последующим удалением защитных групп [4]. В настоящей работе мы вновь использовали реакцию Бредерера в синтезе 5'-О-глюкопиранозилуроната 1-(β-D-арабинофуранозил)цитозина — нуклеозида-антиметаболита, обладающего высокой противоопухолевой активностью.

Схема 1



\* Предварительное сообщение см. [1].

Соединение	5-Н	6-Н	1'-Н	2'-Н	3'-Н	4'-Н	5'-Н <sub>2</sub>	
							а	б
(III)	7,88	8,06	6,37 (4,3)	5,53	5,17	4,11	4,23 (11,0)	3,86
(IV)	5,98	7,72	6,15 (4,8)	4,36	4,10-4,05	4,10-4,05	4,17 (11,0)	3,89

Взаимодействие 1-(2,3-ди-О-ацетил-5-О-тритил-β-D-арабинофуранозил)-N-4-ацетилцитозина (I) [5] (схема 1) с двойным избытком ацетилгалогенозы (II) [6] и AgClO<sub>4</sub> в безводном нитрометане при 20° С в течение 16 ч привело к образованию защищенного гликозилнуклеозида (III), который был выделен с выходом 20% после хроматографической очистки на колонке с силикагелем с последующей дополнительной очисткой на пластинках с силикагелем. Обработка соединения (III) метилатом натрия в метаноле привела к глюкурониду (IV), который был выделен в виде аморфной, гигроскопичной аммониевой соли после хроматографической очистки на дауэксе 50 (H<sup>+</sup>).

В спектрах ПМР защищенного гликозилнуклеозида (III), а также аммониевой соли глюкуронида (IV) наблюдаются сигналы всех протонов молекулы (см. таблицу). Большие величины констант спин-спинового взаимодействия (KCCB) аномерного протона глюкуроновой кислоты в соединениях (III) и аммониевой соли кислоты (IV) ( $J_{4',2'}$  7,2 и 7,9 Гц соответственно) указывают на β-конфигурацию О-гликозидных связей. В ИК-спектре аммониевой соли кислоты (IV) наблюдаются характеристические полосы поглощения при 1610 и 1420 см<sup>-1</sup>, соответствующие валентным колебаниям солей карбоновых кислот.

Продолжая работу по изучению О-глюкуронидов противоопухолевых нуклеозидов, мы изучали подходы к синтезу глюкопиранозилуроната амида 1-(β-D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (виразола, рибавирина, рибамида), обладающего противовирусной и противоопухолевой активностями [7, 8]. В качестве метода гликозилирования была также выбрана реакция Бредерера. Исходные тритильные производные метилового эфира 1-(β-D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (VI) и (VII) ранее описаны не были. Взаимодействие метилового эфира 1-(β-D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (V) (схема 2) с трифенилхлорметаном в пиридине при 20° С в течение 5 сут привело к метиловому эфиру 1-(5-О-тритил-β-D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (VI), который был выделен с выходом 43%. Соединение (VI) ацетилировали уксусным ангидридом в пиридине и получали метиловый эфир 1-(2,3-ди-О-ацетил-5-О-тритил-β-D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (VII), который был выделен кристаллизацией с выходом 92%.

При взаимодействии тритилового эфира (VII) с ацетилгалогенозой (II) в присутствии AgClO<sub>4</sub> в нитрометане при 20° С в течение 30 мин после хроматографической очистки на пластинках с силикагелем из реакционной смеси был неожиданно выделен метиловый эфир 1-[метил(2,3,4-три-О-ацетил-β-D-глюкопиранозил)уронат]-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (VIII) с выходом 35%. Это превращение является первым примером замены углеводного фрагмента в процессе гликозилирования в ряду нуклеозидов триазола. Ранее возможность превращений такого рода была продемонстрирована Лихтеналером и сотр. [9] на примере перегликозилирования пуриновых нуклеозидов в присутствии солей ртути.

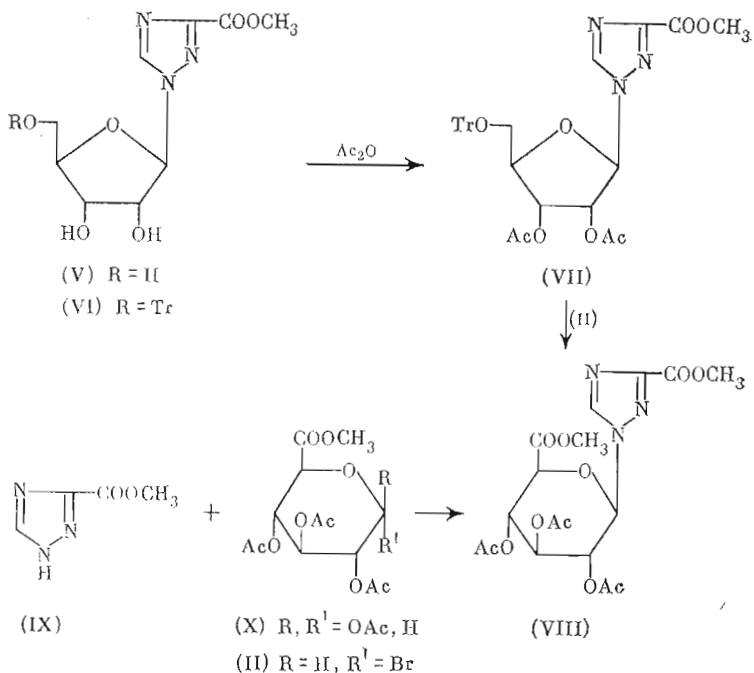
Структура N-глюкуронида (VIII) была подтверждена встречным синтезом из метилового эфира триазол-3-карбоновой кислоты (IX) и производ-

соединений (III) и (IV)  
соединках J, Гц

1''-H	2''-H	3''-H	4''-H	5''-H	CH <sub>3</sub>	COCH <sub>3</sub>	Растворитель (20° С)
4,68	5,03 (7,2)	5,28	5,28	4,11	3,78	2,27 2,12 2,03 2,03 2,02 1,97	CDCl <sub>3</sub>
4,51	3,33 (7,9)	3,47	3,69	3,47	—	—	D <sub>2</sub> O

ных глюкуроновой кислоты (X) и (II). Взаимодействие триметилсильного производного основания (IX) с метиловым эфиром 1,2,3,4-тетра-О-ацетил-D-глюкопирануроновой кислоты (X) в присутствии SnCl<sub>4</sub> в ацетонитриле при 20° С в течение 48 ч привело к нуклеозиду (VIII), который был выделен на пластинках с силикагелем с выходом 26%. В том случае, когда в качестве гликозилирующего агента в этой реакции использовалась ацилгалогеноза (II), выход нуклеозида (VIII) составил 25%.

Схема 2



В ПМР-спектре соединения (VIII) удается отнести сигналы протонов гетероциклического и углеводного остатков. Сигнал протона при 1'-H находится в существенно более слабом поле, чем сигналы остальных протонов углеводного остатка, и представляет собой квартал с расстоянием между внешними линиями 8,0 Гц. По аналогии с [10] величина КССВ может быть определена как J<sub>1',2'</sub> 8,0—1,0 Гц и свидетельствует в пользу β-конфигурации при С1'.

Место присоединения углеводного остатка в соединении (VIII) устанавливали на основании данных ПМР-спектроскопии. На примере N-метилзамещенных 1,2,4-триазолов было показано, что химические сдвиги (δ, м.д.) протонов, принадлежащих углеродным атомам, находящимся в α-положении по отношению к замещенному атому азота, чувствительны

к смене полярности растворителя:  $\Delta\delta$  ( $\delta_{\text{DMCO-d}_6} - \delta_{\text{CDCl}_3}$ )  $\approx 0,4$  м.д.; химические сдвиги протонов при  $\beta$ -углеродных атомах не реагируют на смену растворителя [14]. Для соединения (VIII) величина  $\Delta\delta$  (5-H) составляет 0,63 м.д., что указывает на N1-присоединение углеводного остатка к гетероциклическому основанию. Измеренная нами величина  $\Delta\delta$  (5-H) для метилового эфира 1-(2,3,5-три-О-ацетил- $\beta$ -D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты составляет 0,51 м.д.

### Экспериментальная часть

Для ТСХ применяли силуфол UV<sub>254</sub>, препаративную хроматографию проводили на пластинках (20×20 см) с закрепленным слоем силикагеля (толщина слоя 2 мм) марки 60F254 (Merck, ФРГ). Использованы следующие системы растворителей: четыреххлористый углерод — ацетон, 3 : 1 (А), 3 : 2 (Б), 2 : 3 (В), 1 : 2 (Г); хлороформ — метанол, 30 : 1 (Д), 10 : 1 (Е); уксусная кислота — *n*-бутанол — этилацетат — вода, 1 : 1 : 1 : 1 (Ж). Значения приведены для ТСХ на силуфоле. Спектры ПМР соединений (III), (IV), (VIII) сняты на приборе «Bruker WH-360» (ФРГ) при рабочей частоте 360 МГц, остальных соединений — на приборе «Jeol JNM-100» (Япония) при рабочей частоте 100 МГц, внутренний стандарт — тетраметилсилан. УФ-спектры сняты на регистрирующем спектрофотометре «Unisam sp-800» (Англия) в спирте и для соединения (IV) в воде; ИК-спектр снят на спектрофотометре «Perkin-Elmer 283» (США) в таблетках KBr. Удельное вращение определяли на поляриметре «Perkin-Elmer 241» (США).

1-{2,3-ди-О-Ацетил-5-О-[метил(2,3,4-три-О-ацетил- $\beta$ -D-глокопиранозил)уронат]- $\beta$ -D-арабинофуранозил]-N<sup>4</sup>-ацетилцитозин (III). Растворяли 250 мг AgClO<sub>4</sub> в 10 мл безводного нитрометана, добавляли 200 мг драйверита и 710 мг 1-(2,3-ди-О-ацетил-5-О-третил- $\beta$ -D-арабинофуранозил)-N<sup>4</sup>-ацетилцитозина (I). Реакционную массу охлаждали до 0° С, добавляли 470 мг метилового эфира 2,3,4-три-О-ацетил-1-бром-1-дезоксид- $\alpha$ -D-глюкуроновой кислоты (II), через 5 мин добавляли еще 250 мг AgClO<sub>4</sub> и 470 мг ацетилгалогенозы (II), оставляли при 20° С на 16 ч. Выпавший осадок отделяли, фильтрат промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, водой, разбавляли хлороформом, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, растворители удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем в системе Д и затем на пластинках с силикагелем в системе Г, дважды пропуская систему растворителей через пластинки. Получали 160 мг (19,8%) бесцветного аморфного соединения (III),  $R_f$  0,35 (В),  $[\alpha]_D^{20} +45,4$  (с 0,67, CHCl<sub>3</sub>),  $\lambda_{\text{макс}}$  пм (lg  $\epsilon$ ): 250 (4,22); 300 (3,90). Найдено, %: С 49,22; Н 5,11; N 6,05. C<sub>28</sub>H<sub>35</sub>N<sub>3</sub>O<sub>17</sub>. Вычислено, %: С 49,04; Н 5,14; N 6,13.

1-[5-О-(Аммоний- $\beta$ -D-глокопиранурилат)- $\beta$ -D-арабинофуранозил]-цитозин (IV). Растворяли 35 мг соединения (III) в 4 мл 0,25 н. раствора CH<sub>3</sub>ONa в метаноле, оставляли на 1,5 ч при 20° С, добавляли 3 мл даэкса 50 (H<sup>+</sup>) и оставляли на 30 мин (20° С) при перемешивании. Смола отфильтровывали, промывали метанолом, водой и затем элюировали гликозилнуклеозид (IV) 2% водным раствором аммиака, воду и избыток аммиака удаляли в вакууме, получали 25 мг аммониевой соли (IV) в виде белого аморфного гигроскопичного вещества,  $R_f$  0,18 (Ж),  $\lambda_{\text{макс}}$  273 нм, lg  $\epsilon$  3,55.

Метильный эфир 1-(5-О-третил- $\beta$ -D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (VI). В 30 мл безводного пиридина растворяли 2,7 г метилового эфира 1-( $\beta$ -D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (V) и 2,9 г трифенилхлорметана и оставляли на 5 сут при 20° С. Реакционную смесь выливали в 1 л ледяной воды, выпавший аморфный осадок отделяли, растворяли в 20 мл хлороформа, промывали водой, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, растворители удаляли в вакууме. Сухой остаток растирали с эфиром, эфир декантировали. После высушивания получали 2,4 г (46,2%) эфира (VI) в виде аморфного светло-желтого вещества,  $R_f$  0,31 (Е),  $[\alpha]_D^{20} -6,1$  (с 0,6, CH<sub>3</sub>OH). ПМР-спектр (пиридин-d<sub>5</sub>, 50° С),  $\delta$ , м.д.: 8,86 (5-H); 7,80—7,08 (OTr); 6,39 (1'-H); 5,05 (2'-H);  $J_{1,2}$  3,2 Гц; 4,92—4,56 (3'-H,

4'-H); 3,71 (CH<sub>3</sub>); 3,58 (5'-H<sub>2</sub>). Найдено, %: С 66,95; Н 5,65; N 8,43. C<sub>28</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>. Вычислено, %: С 67,05; Н 5,43; N 8,38.

*Метилловый эфир 1-(2,3-ди-О-ацетил-5-О-тригил-β-D-рибофуранозил)-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (VII)*. В 30 мл безводного пиридина растворяли 2,17 г соединения (VI), добавляли 15 мл уксусного ангидрида и оставляли на 16 ч при 20° С. Реакционную смесь выливали в 1 л ледяной воды, выпавший кристаллический осадок фильтровали, промывали водой. После кристаллизации из этанола получали 2,0 г (79%) бесцветного кристаллического соединения (VII), R<sub>f</sub> 0,30 (А); т. пл. 150–153° С (с разл.). ПМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>, 30° С), δ, м.д.: 8,37 (5-H); 7,54–7,04 (OTr); 6,08 (1'-H); 5,89 (2'-H); J<sub>1',2'</sub> 3,8 Гц; 5,61 (3'-H); 4,36 (4'-H); 3,91 (CH<sub>3</sub>); 3,44 (5'-H<sub>2</sub>). Найдено, %: С 65,32; Н 5,31; N 7,19. C<sub>32</sub>H<sub>31</sub>N<sub>3</sub>O<sub>8</sub>. Вычислено, %: С 65,63; Н 5,34; N 7,18.

*Метилловый эфир 1-[метил(2,3,4-три-О-ацетил-β-D-глюкопиранозил)-уронит]-1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (VIII)*. а) В 6 мл безводного нитрометана растворяли 360 мг AgClO<sub>4</sub>, добавляли 400 мг безводного CaSO<sub>4</sub> и 1 г соединения (VII). Реакционную смесь охлаждали до 0° С, добавляли 680 мг метилового эфира 2,3,4-три-О-ацетил-1-бром-1-дезоксид-α-D-глюкуроновой кислоты (II) и оставляли при 20° С на 30 мин. Выпавший осадок отделяли, фильтрат промывали насыщенным водным раствором NaHCO<sub>3</sub>, водой, разбавляли хлороформом, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, растворители удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали в системе Б. Получали 240 мг (31,8%) бесцветного аморфного соединения (VIII), R<sub>f</sub> 0,36 (Б), [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> -8,2 (с 0,82; CHCl<sub>3</sub>). ПМР-спектр (CDCl<sub>3</sub>, 41° С), δ, м.д.: 8,66 (5-H); 6,54 (1'-H); 5,35 (2'-H, 3'-H); J<sub>1',2'</sub> 8,0 Гц; 5,43 (4'-H); 4,34 (5'-H); J<sub>4',5'</sub> 8,0 Гц; 4,13 (CH<sub>3</sub> углеводного остатка); 3,85 (CH<sub>3</sub> агликона); 2,17; 2,15; 1,98 (OAc). Найдено, %: С 46,00; Н 4,87; N 9,01. C<sub>17</sub>H<sub>21</sub>N<sub>3</sub>O<sub>11</sub>. Вычислено, %: С 46,02; Н 4,74; N 9,48. Разлагается при хранении (4° С).

б) Кипятили 8 ч 210 мг метилового эфира 1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты (IX) и 10 мг (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в 3 мл гексаметилендисульфата (ГМДС), продукт силилирования перегоняли в вакууме, растворяли в 10 мл безводного ацетонитрила, добавляли 600 мг метилового эфира 1,2,3-тетра-О-ацетил-D-глюкуроновой кислоты (X) и 0,12 мл SnCl<sub>4</sub>, оставляли на 48 ч при 20° С. Реакционную смесь выливали в 50 мл насыщенного водного раствора NaHCO<sub>3</sub> и экстрагировали хлороформом. Хлороформный экстракт промывали водой, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали. Остаток хроматографировали в системе Б. Получали 190 мг (26,2%) бесцветного аморфного соединения (VIII).

в) Кипятили 8 ч 300 мг соединения (IX) и 10 мг (NH<sub>4</sub>)<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> в 4 мл ГМДС, ГМДС удаляли в вакууме, продукт силилирования растворяли в 10 мл безводного ацетонитрила, добавляли 940 мг ацетилгалогенозы (II) и 0,20 мл SnCl<sub>4</sub>, оставляли на 5 сут при 20° С. Реакционную смесь обрабатывали аналогично предыдущей методике. Получали 250 мг (25,0%) бесцветного аморфного соединения (VIII).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. *Preobrazhenskaya M. N., Chkanikov N. D., Tolkachev V. N., Brusentsov N. A.* Nucl. Acids Res., Spec. Publ., 1981, № 9, p. 87–89.
2. *Levy G. A., Conchie J.* Glucuronic Acid. N. Y.: Acad. Press, 1966, p. 301.
3. *Bicker U.* Nature, 1974, v. 252, № 5485, p. 726–727.
4. *Чкаников Н. Д., Преображенская М. И.* Биоорган. химия, 1980, т. 6, № 1, с. 67–69.
5. *Wechter W. J.* J. Med. Chem., 1967, v. 10, № 5, p. 762–773.
6. *Bollanback G. N., Long J. W., Benjamin D. G., Linquist J. A. J.* Amer. Chem. Soc., 1955, v. 77, № 12, p. 3310–3315.
7. *Witkowski J. T., Robins R. K., Sidwell R. W., Simon L. N.* J. Med. Chem., 1972, v. 15, № 11, p. 1150–1154.
8. *Лесная Н. А., Плаготова Г. Н., Переголчина Н. М., Софьина З. П., Сметанкина О. З.* В кн.: Новости химии нуклеозидов и нуклеотидов. Рига: Зинатне, 1978, с. 143–145.
9. *Riess W., Lichtenthaler F. W.* Nucl. Acids Res., Spec. Publ., 1978, № 4, p. 115s–118s.
10. *Красавина Л. С., Вигдорчик М. М., Турчин К. Ф., Суворов Н. Н.* Ж. орган. химии, 1979, т. XV, вып. 2, с. 431–435.

**SYNTHESIS OF 1-( $\beta$ -D-ARABINOFURANOSYL)CYTOSINE 5'-O-GLUCURONIDE.  
THE SUGAR EXCHANGE REACTION AT THE ATTEMPTED SYNTHESIS OF  
1-( $\beta$ -D-RIBOFURANOSYL)-1,2,4-TRIAZOLE-3-CARBOXAMIDE O-GLUCURONIDE.**

**CHKANIKOV N. D., TOLKACHEV V. N., KORNVEYTS M. Z.,  
PREOBRAZHENSKAYA M. N.**

*All-Union Cancer Research Center, Academy of Medical Sciences  
of the USSR, Moscow*

Condensation of 1-(2,3-di-O-acetyl-5-O-trityl- $\beta$ -D-arabinofuranosyl)-N<sup>4</sup>-acetylcytosine with methyl (2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl bromide)uronate in the presence of AgClO<sub>4</sub> and subsequent deblocking led to 1-[5-O-( $\beta$ -D-glucopyranosyluronate)- $\beta$ -D-arabinofuranosyl]cytosine which was isolated as ammonia salt by ion-exchange chromatography. Treatment of methyl 1-(2,3-di-O-acetyl-5-O-trityl-D-ribofuranosyl)-1,2,4-triazole-3-carboxylate with methyl (2,3,4-tri-O-acetyl- $\alpha$ -D-glucopyranosyl bromide)uronate in the presence of AgClO<sub>4</sub> gave methyl 1-[methyl-(2,3,4-tri-O-acetyl- $\beta$ -D-glucopyranosyl)uronate]-1,2,4-triazole-3-carboxylate, which was also prepared by glycosylation of the heterocycle. The structure of the compounds obtained was established by PMR, UV, IR, and mass spectrometry.

Технический редактор *Е. С. Кузьмишкина*

---

Сдано в набор 21.06.82      Подписано к печати 15.07.82      Т-13175      Формат бумаги 70×108<sup>1</sup>/<sub>16</sub>  
Высокая печать      Усл. печ. л. 11,2      Усл. кр.-отт. 9,8 тыс.      Уч.-изд. л. 12,7      Бум. л. 4.0  
Тираж 852 экз.      Зак. 1675

---

Издательство «Наука», 103717, ГСП, Москва, К-62, Подосенский пер., 21  
2-я типография издательства «Наука», 121099, Москва, Шубинский пер., 10