

Реакції йодування вуглеводного фрагмента піримідинових нуклеозидів як перспективний метод одержання протиретровірусних препаратів

А. С. Шаламай

Інститут молекулярної біології та генетики НАН України
252143, Київ, вул. Академіка Заболотного, 150

Здійснено аналіз сучасних методів хімічного деоксигенування нуклеозидів, які пов'язані з реакціями нуклеофільного заміщення гідроксильних груп та β -елімінування проміжних активних ситонів. Показано перспективність йодування вуглеводного залишку піримідинових нуклеозидів за допомогою йодфосфонієвих солей. Вивчено механізм деоксигенування 5'-О-захисчених похідних уридину та тимінрибозиду, куди входять окремі реакції утворення С₂- та С₃-квазіфосфонієвих йодидів. Їхні подальше внутрішньомолекулярне перетворення та β -елімінування 2',3'-дигідродериватів.

Вступ. Серед відомих інгібіторів зворотної транскриптази ретровірусів та термінаторів процесу елонгації при біосинтезі вірусних ДНК-копій значне місце посідають нуклеозидні похідні та аналоги, модифіковані по вуглеводному фрагменту [1]. Завдяки унікальним біологічним властивостям особливе значення мають насамперед 2',3'-дидезокси- та 2',3'-дидезокси-2',3'-дидегідронуклеозиди [2]. Механізм інгібіторної дії цих сполук пов'язаний з низкою послідовних ферментативних реакцій та процесів, що відбуваються в інфікованій клітині при біосинтезі провірусної ДНК. Модифіковані нуклеозиди після відповідної трансформації у 5'-трифосфати як субстрати на стадії елонгації здатні включатися до послідовності ДНК-копій чи як інгібітори ревертази можуть зв'язувати цей фермент [3, 4]. Відсутність у рибозидному залишку молекули модифікованого нуклеозиду гідроксильної групи в 3'-положенні повністю виключає можливість подальшого утворення фосфодієфірного зв'язку на 3'-кінці ДНК, що синтезується.

Серед відомих 3'-замішених 2',3'-дидезоксинуклеозидів визначне місце посідає 3'-азидотимідин, на основі якого було створено лікарську форму препарату зидовудину (ретровір).

Практичне застосування знайшли й інші диде-

зоксинуклеозиди — інгібітори ревертази та процесу елонгації провірусної ДНК, а саме: 2',3'-дидезоксцитидин (хевід) і 2',3'-дидезоксинозин (відекс), що як протівірусні препарати тепер виробляються різними фармфірмами світу. Останнім часом контролюючим органом США FDA було зареєстровано лікарський препарат 2',3'-дидегідро-3'-дезокситимідин (D4T) — ставудин (зерит) і його виробництво налагоджено фірмою Брістоль-Майєрс-Сквібб [5, 6]. Ставудин є високоактивним інгібітором зворотної транскриптази ВІЛ і відрізняється від зидовудину значно вищим показником хіміотерапевтичного індексу [7]. Багатоцентровими клінічними дослідженнями ставудину було показано, що його одноразовою ефективною терапевтичною дозою може бути 40 мг препарату, тоді як для зидовудину вона становить 200 мг [5—8].

Високі інгібіторні властивості по відношенню до ревертаз ретровірусів (майже на рівні дії D4T) проявляє 2',3'-дидезокси-2',3'-дидегідрouriдин (D4U) [9].

Різними методами було синтезовано дидегідронуклеозиди з канонічними агліконами, з галоген- та алкілзаміщеннями в пуринових та піримідинових гетероциклах, а також похідні з атомами фтору, хлору, ціано- та метильною групами при вільному залишку у вуглеводному фрагменті [9—14].

Проведений аналіз експериментальних даних з вивчення інгібіторних та термінаторних властивостей модифікованих дидегідронуклеозидів відносно репродукції ВІЛ у більшості випадків свідчить про кореляцію між біологічною активністю та їхньою структурою [15].

2',3'-Дидегідронуклеозиди — інгібітори репродукції ретровірусів та їхнє використання. При створенні анти-ВІЛ-активних препаратів нуклеозидної природи і насамперед в ряду дидегідропохідних доцільним є відпрацювання певних фундаментальних положень, пов'язаних з молекулярно-біологічними аспектами проблеми ВІЛ-інфекції. токсико-фармакологічними показниками препарату та розробкою технології одержання субстанції препарату на основі науково обгрунтованого методу хімічної трансформації нуклеозидів. Сучасні методи синтезу модифікованих похідних та аналогів нуклеозидів дозволяють виконувати будь-які структурні хімічні трансформації аглікону чи вуглеводного фрагмента. Проте вони досить складні та багатостадійні і це у більшості випадків підвищує вартість синтезів цих сполук.

Відмічено, що додаткова модифікація аглікону дидегідронуклеозиду за рахунок введення замісників різної хімічної природи не завжди призводить до посилення їхніх інгібіторних властивостей у порівнянні з вихідними немодифікованими нуклеозидами [12—15]. У зв'язку з цим найвищі інгібіторні властивості виявляють саме D4T та D4U [10]. Зрозуміло, що послідовні і детальні дослідження специфічності дії D4T як інгібітора зворотної транскриптази ВІЛ та термінатора біосинтезу ДНК-копії, вивчення його токсико-фармакологічних, фармакокінетичних властивостей завершилися розробкою анти-ВІЛ-активного препарату ставудину [5—8].

Дещо зменшена увага до D4U як потенційного терапевтичного засобу була зумовлена тим, що при складнішій будові вуглеводного фрагмента уридину, тобто завдяки наявності при ньому двох гідроксильних груп, дезоксигенування є досить складним завданням.

Методи одержання дидегідронуклеозидів. У хронологічній послідовності можна прослідкувати шляхи розробки методів дезоксигенування нуклеозидів. Більшість з них пов'язана з нуклеофільним β -елімінуванням високореакційних синтонів. Оскільки значна кількість методів мала кінцевою метою одержання 2',3'-дидезоксинуклеозидів, то 2',3'-дидегідропохідні використовували як проміжні сполуки для подальшого каталітичного гідрування.

Вивчення інгібіторних властивостей дидегідронуклеозидів відносно ВІЛ *in vitro*, розробка ме-

тодів скринінгу препаратів з антивірусною активністю сприяли пошуку серед них найактивніших і найперспективніших похідних. Один з перших синтезів D4U включав взаємодію 3'-О-мезил-5'-О-тритил-2'-дезоксидуридину з гідроксидом натрію і утворений $O_2,3'$ -ангідро-1-(2'-дезоксиде-5'-О-тритил-D-ліксозид)урацилу під дією калію третбутоксиду в ДМСО перетворювався у 5'-О-тритил-D4U [16, 17]. Аналогічним шляхом синтезовано D4C і в цьому випадку вихідною сполукою був N_4 -бензоіл-3',5'-О-димезил-2'-дезоксидцитидин [18]. Цей метод також було використано при синтезі D4U [19].

В умовах реакції нуклеофільного β -елімінування з використанням спочатку активних синтонів 3'-О-мезил-, а потім 3'-фенілселеноксипохідних тимідину був синтезований D4T [20, 21].

Досить продуктивним був метод одержання D4U, що ґрунтувався на β -елімінуванні 2',3'-тіокарбонату 5'-О-захисених уридинів за допомогою триметилфосфіну як сильного нуклеофіла, в інертному середовищі [22].

Подібним способом при використанні 2',3'-диметилксантогенатного синтону N6-метиладенозину в присутності трибутилоловогідриду синтезовано D4meA [23].

В умовах відновлювального β -елімінування суміші транс-2'(3')-О-ацетил-3'(2')-бромдезоксиденозину в присутності цинк-мідної пари в ДМФА з високим виходом було одержано D4A [24]. Універсальність цього методу продемонстровано на прикладі хімічної трансформації цілої низки рибонуклеозидів у 2',3'-дидезокси-2',3'-дидегідропохідні [25].

Варіанти реакції β -елімінування при синтезі D4U та D4T. Нуклеофільне β -елімінування по C_2 - та C_3 -положеннях рибофуранози нуклеозидів завжди можливе за наявності в зазначених положеннях електроноакцепторних замісників. Такими замісниками можуть бути метансульфонатна та толуолсульфонатна групи, галогени, похідні тіокарбонатів та ксантогенатів. Нуклеофільна атака згаданих активних синтонів у більшості випадків супроводжується відщепленням протона чи іншої полярної групи в β -положенні від електрофільного замісника і це закінчується винищенням зв'язку між C_2 - та C_3 -атомами.

Разом з тим в піримідинових нуклеозидах зближення O_2 -атома аглікону з C_2 -атомом рибофуранози призводить до внутрішньомолекулярної нуклеофільної реакції, а саме: $O_2,2'$ -циклізації. Особливо легко ці процеси відбуваються за наявності біля C_2 -атома високореакційних електрофільних замісників. Останнє у більшості випадків

приводить до проходження побічної реакції O_2 -2'-циклізації і тим самим позначається на основній реакції β -елімінування. У зв'язку з цим при доборі активуючих агентів і відповідних нуклеofilів необхідно обов'язково передбачати можливі варіанти проходження подібних реакцій.

Вище при аналізі методів одержання D4U, D4T та D4C наводилися приклади застосування активуючих мезильної та фенілселенокисильної груп [18, 20, 21]. У випадку використання галогензаміщених похідних рибофуранозидів процес нуклеофильного β -елімінування також може проходити успішно. Підтвердженням цьому стали запропоновані оригінальні методи одержання D4T, в одному з яких також на останній стадії відбувається нуклеофильне β -відщеплення йодистого водню при C_2 - та C_3 -атомах [26, 27]. Вибір 2'-йод-2',3'-дидезокситимінрибозиду як проміжного активного синтону був зумовлений тим, що саме з 2'-йодпохідним можливе утворення етиленового зв'язку виключно між C_2 - та C_3 -атомами рибофуранозного залишку. У випадку доступнішого 3'-йодпохідного процес β -відщеплення був би неоднозначним, оскільки продуктом реакції могла бути суміш C_2 - C_3 - та C_3 - C_4 -вінільних похідних (рис. 1).

Дещо складнішим є синтез D4T, де відщеплення досить сильної електроноакцепторної трифторметансульфонільної групи відбувається під впливом сильного нуклеофила DBU [27] (рис. 2).

Галогенпохідні рибофуранозидів як вихідні активні синтони в синтезах дидегідронуклеозидів. У вищенаведених синтезах дидегідронуклеозидів також успішно були використані бромцетилпохідні [24, 25].

Одним із методів введення галогенів у відповідні положення рибофуранози може бути метод галогенування в умовах реакції Арбузова [28—30]. Показано, що при використанні галогенпохідних трьохвалентного п'ятикоординованого фосфору, а саме: $(PhO)_3P^+MeX^-$, $Ph_3P^+XX^-$, $Ph_3P^+CX_3X^-$ (X^- , Cl, Br, J) галогенування вуглеводного залишку нуклеозидів протікає через стадії утворення проміжних квазіфосфонієвих солей. Наступне перегрупування солей по механізму реакцій S_{N2} -нуклеофильного заміщення завершується утворенням відповідних галогенпохідних. Крім того, для піримідинових нуклеозидів на прикладі реакції 5'-O-захищеного тимідину з $(PhO)_3P^+MeI^-$ чи $Ph_3P^+CX_3X^-$ було показано, що в залежності від розміру і нуклеофильності галоген-аніону трансформація C_3 -квазіфосфонієвого похідного може проходити двома шляхами. Так, внаслідок внутрішньомолекулярної нуклеофильної $O_2,3'$ -циклізації з подальшим розщепленням циклонуклеозиду гало-

ген-аніоном або виключно внаслідок перегрупування квазіфосфонієвої солі по механізму реакції Арбузова. Тому в результаті цих перетворень продукти реакції — 3'-галогенпохідні мають різну стереоізомерну будову. У випадку галогенування $Ph_3P^+CX_3X^-$ 5'-O-захищених рибофуранозидів реакція проходить виключно через стадію $O_2,2'$ -циклізації [30]. У той же час 2',5'-дитритил- β -D-уридин та 1-(2',5'-дитритил-ксилофуранозил)урацил йодуються по C_3 -положенню тільки у відповідності з механізмом реакції Арбузова [29]. Таким чином, механізм реакції йодування може визначатися не тільки природою нуклеофила — галоген-аніона, але й електронними та стеричними властивостями замісника при C_2 -положенні. Виходячи з сукупності цих даних можна вважати, що одним з перспективних методів введення галогенів у вуглеводний залишок нуклеозидів може бути розщеплення за участю галогенводнів $O_2,2'$ - чи $O_2,3'$ -ангідрозв'язку у відповідних похідних. Раніше цей метод було запропоновано при отриманні 2'-галогенпохідних [31, 32], але через жорсткі умови реакції — довготривале нагрівання діоксанового чи трифтороцтового розчинів з галогеноводнями під тиском в ампулі був визнаний малопродуктивним.

Встановлено, що циклонуклеозиди можуть розщеплюватися галогенпіридиновими солями [30]. Так, 5'-O-тритил- $O_2,3'$ -циклотимідин у присутності гідрохлориду чи гідройодиду піридину в ДМФА перетворюється у відповідні 3'-хлор- чи 3'-йодпохідні. Досить цікавою є реакція $O_2,3'$ -циклотимідину за участю $(PhO)_3P^+MeI^-$, що закінчується утворенням 3',5'-дйод-3',5'-дидезокситимідину [29]. Автори вважають, що розкриття ангідрозв'язку відбувається під дією йодистого водню, який міг утворюватися внаслідок гідролізу фосфоніййодиду слідами вологи, внесеної розчинником до реакційного середовища. З наведеного аналізу даних видно, що галогенпохідні трьохвалентного фосфору можуть бути ефективними галогенуючими агентами вуглеводного фрагмента нуклеозидів. Детальне вивчення механізмів цих реакцій при вмілому доборі умов їхнього проведення дозволило б розробити оригінальні методи одержання активних галогенованих синтонів нуклеозидів.

Слід відмітити, що саме йодпохідні є найактивнішими синтонами в реакціях β -елімінування. Особливо це стосується дйодидів, які здатні спонтанно розпадатися з утворенням ненасичених похідних та елементарного йоду. Так, при взаємодії вуглеводних піраноз з сумішами Ph_3P , йоду з імідазолом (Im) [33] чи Ph_3P з трийодімідазолом [34, 35] або Ph_3P з йодоформом [36] було одер-

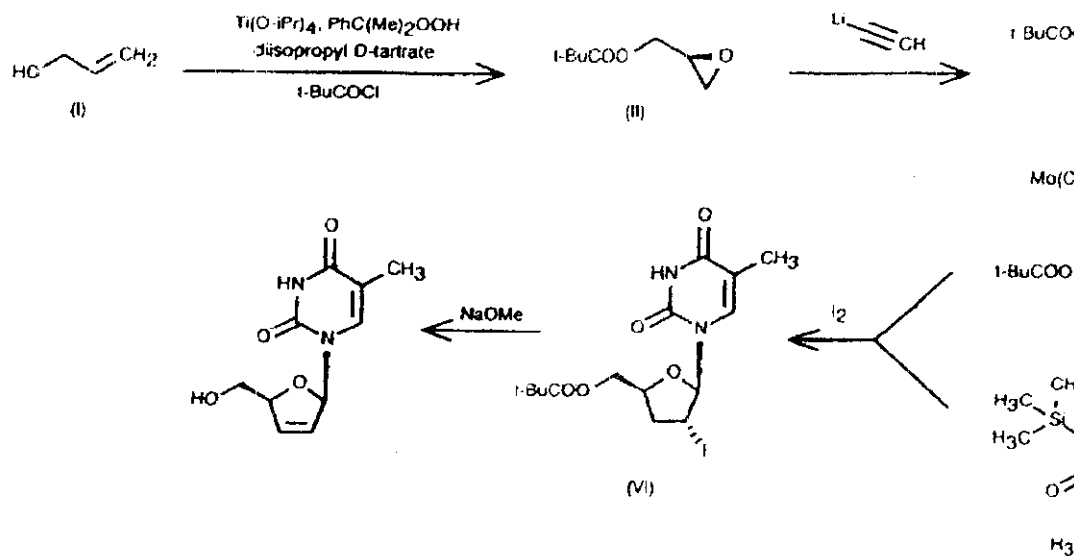


Рис. 1. Синтез D4T з використанням 2'-йодпохідного тимідину

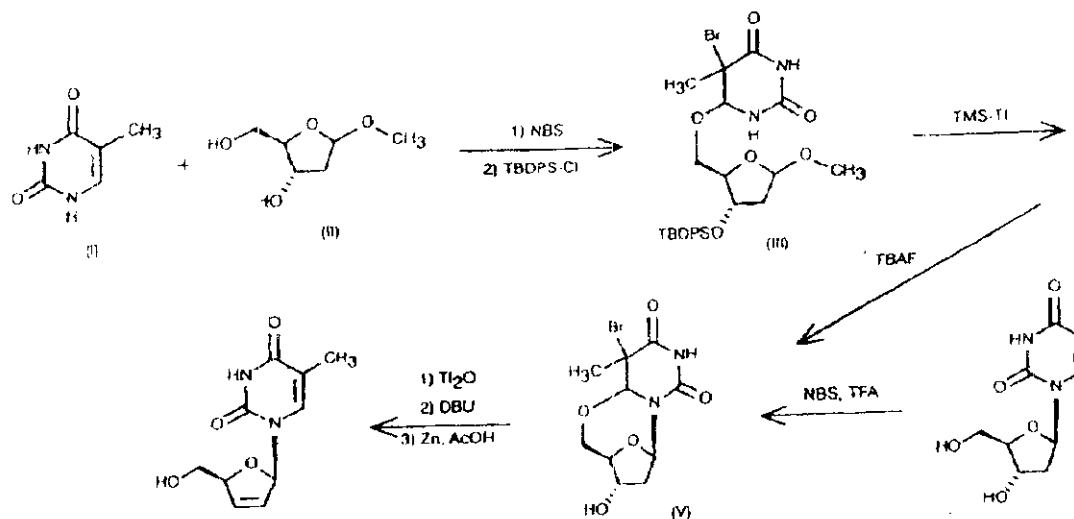


Рис. 2. Синтез D4T з використанням 3'-флуатового похідного тимідину

жано ненасичені похідні піранозидів з високими виходами.

Вивчення реакцій галогенування піримідинових нуклеозидів за участю галогенпохідних трьохвалентного фосфору. Враховуючи доступність галогенфосфорних похідних та інваріантність їхньої реакційної здатності, доцільним було вивчити за їхньою участю рециклізацію $O_2,2'$ -циклонуклеозидів, а також здійснити пошук шляхів галогенування 5'-О-захищеного уридину та тимінрибозиду. Саме поетапне вивчення цих реакцій дозволило б дослідити механізми постадійних перетворень, які спостерігаються в реакціях галогенпохідних фосфору виключно з піримідиновими нуклеозидами. Особливості будови цих нуклеозидів передбачають можливість проходження ряду внутрішньомолекулярних нуклеофільних перетворень.

Крім того, саме реакційна здатність вихідних йодфосфорних похідних та проміжних квазіфосфонієвих солей є вирішальним фактором інваріантності проходження основної реакції йодування вуглеводного фрагмента нуклеозидів та реалізації внутрішньомолекулярних нуклеофільних реакцій.

Найдоступнішим йодфосфонієвим похідним є трифенілйодфосфоній йодид $Ph_3P^+J_2^-$, який утворюється при взаємодії трифенілфосфіну (Ph_3P) та йоду в середовищі сухого розчинника. Тому саме з використанням $Ph_3P^+J_2^-$ почалися наші дослідження реакцій йодування піримідинових нуклеозидів, а саме: 5'-О-бензоїл- $O_2,2'$ -циклоуридину [37]. Було показано, що вже через півгодини основними продуктами реакції можуть бути 2'-йодпохідне та трифенілфосфіноксид. Такий хід реакції, напевно, зумовлений тільки взаємодією циклонуклеозиду з йодистим воднем, що утворюється при гідролізі $Ph_3P^+J_2^-$. До реакційного середовища волога могла потрапити з розчинником діоксаном. Проте не виключався і варіант прямої нуклеофільної атаки S_2 -положення циклонуклеозиду йод-аніоном сполуки $Ph_3P^+J_2^-$. Для перевірки цього припущення реакцію здійснювали в абсолютно сухому розчиннику і це збільшило час повного перетворення $O_2,2'$ -циклонуклеозиду в 2'-йодпохідне майже до 36 год.

Поясненням проходження реакції з участю йодистого водню є те, що саме внаслідок протонування N_3 -атома гетероциклу підвищується електрофільність S_2 -положення фуранози. Останнє сприяє нуклеофільній атаці йод-аніоном цього електрофільного центру. Подібні перетворення циклонуклеозиду з участю йодистого водню вже відмічалися раніше [28, 29].

У ході визначення цієї реакції було показано [37], що для повного розкриття $O_2,2'$ -циклонукле-

озиду достатньо 0,6 мольних часток $Ph_3P^+J_2^-$ на 1 мольну частку вихідного нуклеозиду.

Для вивчення різних варіантів розщеплення $O_2,2'$ -циклонуклеозидів за участю галогенводнів, що можуть утворюватися внаслідок гідролізу галогенпохідних фосфору, було проведено ряд дослідів з взаємодії 5'-О-бензоїл- $O_2,2'$ -циклопохідних уридину та тимінрибозиду з галогенпохідними фосфору загальної формули $AnPXm$.

В результаті вивчення варіантів реакції рециклізації $O_2,2'$ -циклонуклеозидів з участю галогенводнів, утворюваних внаслідок гідролізу галогенфосфітних похідних, було підібрано оптимальні умови одержання 2'-галоген-2'-дезоксипохідних уридинового ряду.

Синтез 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксиуридину за участю фосфонієвих йодидів. Виходячи з вищевикладених даних доцільним було вивчення реакцій йодування 5'-О-бензоїл- $O_2,2'$ -циклоуридину (I) солями $Ph_3P^+J_2^-$ (II) та $Ph_3P^+ImJ^-$ (IV), утворюваними при взаємодії Ph_3P з йодом, а потім — $Ph_3P^+J_2^-$ з імідазолом безпосередньо в реакційній суміші.

На початковому етапі взаємодії сполуки I з сіллю II продуктами були виключно 2'-йодпохідне III та трифенілфосфіноксид (рис. 3). Таке завершення реакції було можливим лише в результаті взаємодії $O_2,2'$ -циклонуклеозиду I з йодистим воднем, що утворився внаслідок гідролізу $Ph_3P^+J_2^-$ вологою розчинника.

Подальшого перетворення 5'-О-бензоїл-2'-йод-2'-дезоксипохідного III під дією $Ph_3P^+J_2^-$ у відповідне 3'-йодпохідне з часом не спостерігалось навіть при трикратному його надлишку. Суттєві зміни в ході реакції йодування відбувалися при введенні в реакційне середовище Im чи його похідних, які могли виконувати функції агентів, що бере участь в перетворенні солі II в похідне типу IV, тобто $Ph_3P^+ImJ^-$ та такі, які здатні зв'язувати йодистий водень.

Виділений продукт реакції — нуклеозид IX, за даними 1H -ЯМР-спектра, ідентифікований як 1-(5'-О-бензоїл-2',3'-дидезокси- β -D-гліцери-пент-2'-енофуранозил)урацил. У відповідності із запропонованим механізмом дидезоксинуклеозид IX міг утворитися лише внаслідок одержання і перетворення 2',3'-дйод-2',3'-дидезоксинуклеозиду [VI]. При його синтезі активною проміжною сполукою могла бути 3'-квазіфосфонієва сіль нуклеозиду [V], котра утворювалася в результаті взаємодії 2'-йоднуклеозиду III з $Ph_3P^+ImJ^-$.

Подальше перетворення 3'-квазіфосфонієвої солі [V] також, скоріш за все, могло відбуватися по двох інваріантних напрямках. Пріоритетним з них,

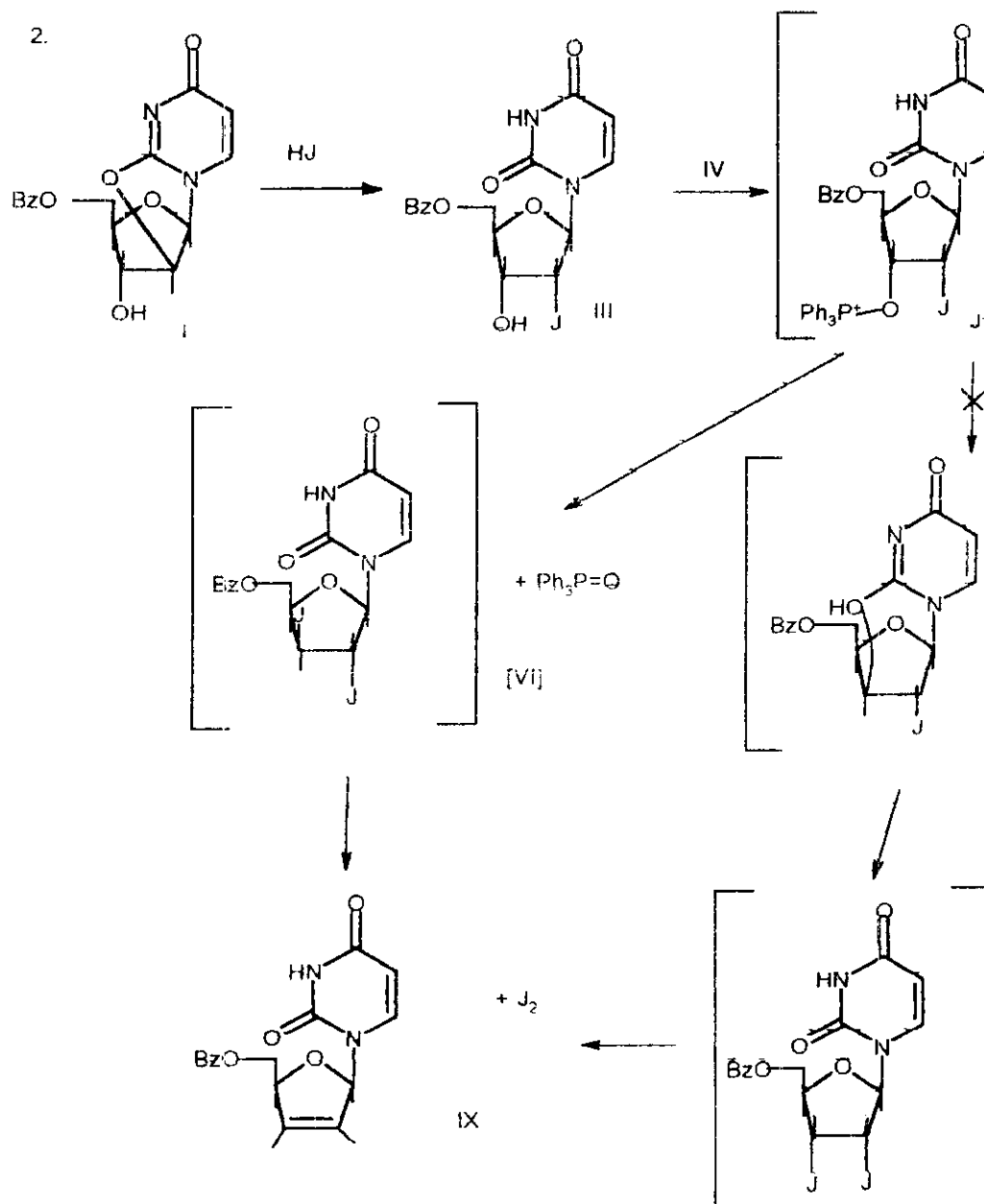
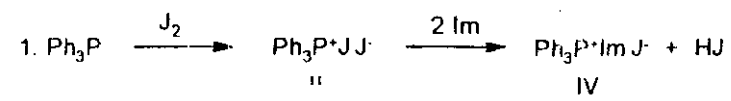


Рис. 3. Синтез 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксиуридину з участю фосфонієвих йодидів

імовірно, було утворення 2',3'-*транс*-дйодиду [VI] внаслідок перегрупування солі [V] за механізмом реакції Арбузова або внаслідок утворення 2',3'-*цис*-дйодпохідного [VIII] через стадію рециклізації проміжного O₂,3'-циклонуклеозиду [VII].

На користь першого варіанту реакцій і утворення проміжних сполук [IV] та [VI] свідчать дані про йодування 2',5'-ди-O-трифлілпохідних тимідину та 1-(β-D-ксилофуранозил)урацилу [29]. Крім того, необхідно врахувати, що основність та нуклеофільність Im, 2-MeIm та VzIm безпосередньо впливають на швидкість утворення сполук [IV] та [VI]. Подальше перегрупування фосфонієвої солі [V], за Арбузовим, не залежить від їхньої наявності в реакційному середовищі. В той же час швидкість перетворення по другому напрямку могла визначатися, насамперед, протонним каталізом розщеплення циклопохідного [VII] [28]. Проте за наявності в реакційному середовищі такої основи, як Im чи його похідних, виключалася будь-яка можливість протонного каталізу процесу розщеплення O₂,3'-циклонуклеозиду [VII] внаслідок зв'язування ними йодистого водню.

Запропонований механізм утворення дидегідронуклеозиду IX знайшов своє підтвердження у проведених реакціях 5'-O-захищеного O₂,2'-циклонуклеозиду I та 5'-O-бензоїлуридину з еквімолярними кількостями Ph₃P, йоду і Im. Ці реакції при кімнатній температурі практично не проходять. Лише при довготривалому нагріванні при 60 °C поряд з основним 2'-йоднуклеозидом III утворювався в невеликій кількості дидегідронуклеозид IX. За цих умов розкриття циклозв'язку в сполуці могло відбуватися з участю йодистоводневої солі імідазолу, що утворювалася при одержанні проміжної квазіфосфонієвої солі IV (див. рис. 3) або внаслідок реакції:



Таким чином, механізм перетворення 5'-O-бензоїл-O₂,2'-циклоуридину в 2',3'-дидезокси-2',3'-дидегідронуклеозид з участю йодфосфонієвих солей складається з окремих стадій нуклеофільного заміщення у відповідності з механізмом реакції Арбузова завдяки α, β-елімінуванню проміжного нестабільного 2',3'-дйодпохідного.

Вивчення механізмів реакцій фосфонієвих йодидів з 5'-O-захищеними уридином та тимінрибозидом. З метою послідовнішого і детальнішого вивчення реакцій йодування Ph₃P⁺JJ⁻ та Ph₃P⁺ImJ⁻ вуглеводного фрагмента 5'-O-захищених піримідинових нуклеозидів були проведені дослід з різни-

ми співвідношеннями реагуючих компонентів та при різних схемах їхнього введення до реакційного середовища. Слід нагадати, що початковими стадіями йодування можуть бути реакції утворення насамперед O₂,2'- та/чи O₂,3'-циклонуклеозидів внаслідок нуклеофільних циклізацій C₂- та/чи C₃-квазіфосфонієвих синтонів. Не виключається і те, що останні в умовах перегрупування за Арбузовим також здатні трансформуватися у відповідні йодиди. Наведені ймовірні варіанти йодування 5'-O-захищених піримідинових нуклеозидів повинні закінчуватися утворенням дйодпохідних різної стереоізомерної будови.

Дослідження варіантів йодування вуглеводу нуклеозидів стає коректним і достовірним за умови поетапного вивчення окремих послідовних реакцій. У зв'язку з цим спочатку 5'-O-бензоїлпохідні уридину Ia та тимінрибозиду Ib вводили у взаємодію з 1,5-кратними кількостями Ph₃P⁺ImJ⁻, утворюваного *in situ*, і основними в реакційній суміші були виключно O₂,2'-циклопохідні IIIa, б цих нуклеозидів та трифенілфосфіноксид. Такий кінець реакції свідчив про початкове фосфорилування гідроксилів рибофуранози і утворення C₂- та/чи C₃-квазіфосфонієвих солей.

Проте стеричне зближення електрофільної 2'-квазіфосфонієвої групи з O₂-атомом аглікону стало передумовою виключної нуклеофільної внутрішньомолекулярної O₂,2'-циклізації. На цьому етапі O₂,2'-циклопохідні уридину IIIa та тимінрибозиду IIIб виділялися з реакційної суміші і їх будову було підтверджено даними їхніх УФ та ПМР спектрів. Трансформацію нуклеозидів схематично наведено на рис. 4.

У наступних дослідах O₂,2'-циклонуклеозиди IIIa, б як проміжні сполуки без виділення вводилися до реакції рециклізації по вищенаведеній схемі (див. рис. 3) і таким шляхом було одержано 2'-йодпохідні IVa, б.

Повне йодування по C₃-атому 2'-йоднуклеозидів IVa, б виконувалося шляхом введення у реакційне середовище до попередньо одержаних 2'-йоднуклеозидів додаткової еквівалентної кількості Ph₃P⁺ImJ⁻.

Взявши до уваги направленість S_N2-нуклеофільних реакцій утворення 2'- та 3'-квазіфосфонієвих похідних та хід супутніх реакцій заміщення по C₂- і C₃-атомах фуранози, можна передбачити трансoidну будову проміжних 2',3'-дйодпохідних [VIa, б].

Таким чином, визначення умов йодування 5'-O-бензоїлпохідних уридину Ia та тимінрибозиду Ib з участю Ph₃P⁺JJ⁻ та Ph₃P⁺ImJ⁻ шляхом підбору кількостей і співвідношень реагуючих сполук до-

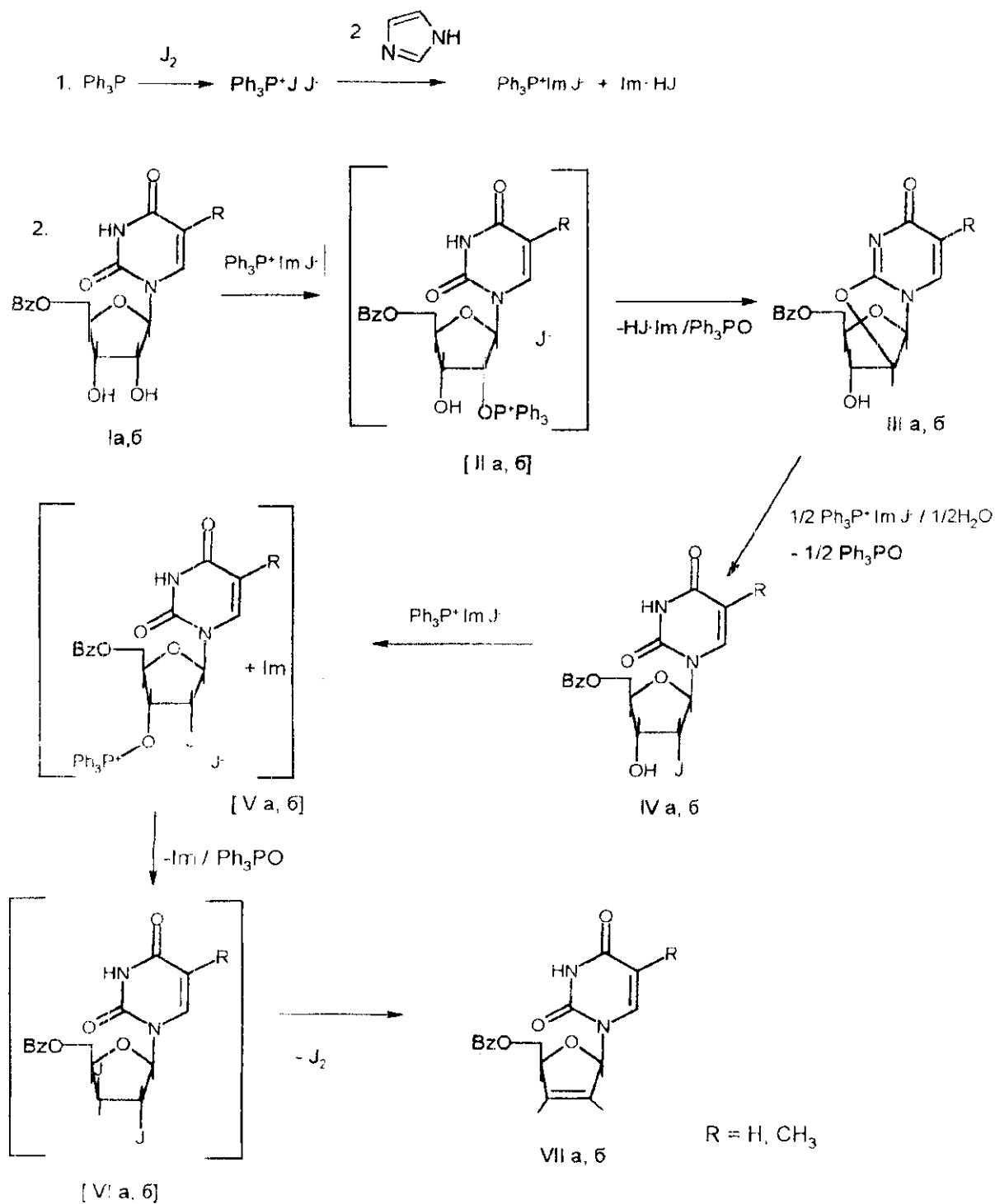


Рис. 4. Механізми утворення 5'-О-бензоїла захищених О₂,2'-цикло- (IIIa, б), 2'-йод-2'-дезокси- (IVa, б) та 2',3'-дигідро-2'3'-дидезокси- (VIIa, б) похідних уридину і тимідину при востадійному їхньому виділенні

зволило розробити методики препаративного одержання 2',3'-дидегідро-2',3'-дидезоксиформідинних VIIa, б уридину (D4U) та тимідину (D4T).

Результатом цих досліджень стало виявлення механізму узгоджених і пов'язаних реакцій, що, ймовірно, можуть проходити кількома альтернативними та паралельними шляхами одночасно з внутрішньомолекулярною рециклізацією і перегрупуванням квазіфосфонічних похідних.

Таким чином, здійснено аналіз відомих методів одержання дидегідронуклеозидів, що пов'язані з деоксигенуванням рибо- чи дезоксирибонуклеозидів, включаючи використання галогенвмісних синтонів.

Показано перспективність нуклеофільних реакцій β -елімінування галогенпохідних в синтезах дидегідронуклеозидів.

В результаті досліджень, проведених автором, вперше вивчено механізми реакцій йодування вуглеводного фрагмента 5'-О-захищених піримідинових нуклеозидів в умовах реакції Арбузова. Показано, що повне йодування вуглеводу може закінчуватися β -елімінуванням дийодидів і утворенням дидегідронуклеозидів.

А. С. Шаламай

Реакции йодирования углеводного фрагмента пиридиновых нуклеозидов как перспективный метод получения противоретровирусных препаратов

Резюме

Сделан анализ современных методов получения дидегидронуклеозидов, основанных на реакциях нуклеофильного β -элиминирования галогенсодержащих по углеводу синтонов. Показана перспективность использования для этих целей йодидов и приведены данные собственных исследований реакций йодирования 5'-О-защитных пиридиннуклеозидов в условиях реакции Арбузова.

Iodination reaction of carbohydrate fragment of pyrimidine nucleosides as perspective method preparation of antiretroviral drugs

A. S. Shalamay

Summary

A mechanism of iodination of C₂ and C₃ carbohydrate atoms in pyrimidine nucleosides has been studied. The iodination was established to be associated with step by step formation of intermediate quaziphosphonic salts and with their further transformation under conditions of intramolecular nucleophilic reaction. The resulted unstable 2',3'-diiodide was shown to be deiodinated and transformed into 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxynucleoside.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. De Clerq E. Antiviral activity spectrum of nucleoside and nucleotide analogues // *Nucleosides and Nucleotides*.—1991.—10, N 2.—P. 176—180.
2. Wright G. E., Brown N. C. Deoxyribonucleoside analogs as

inhibitors and substrates of DNA polymerases // *Pharm. Ther.*—1990.—47, N 3.—P. 447—497.

3. Dyatkina N. B., Kauhanova M. N., Kravetsky A. A. et al. Properties of 2',3'-dideoxy-2',3'-didehydrothymidine 5'-triphosphate in terminating DNA synthesis, catalyzed by several different DNA polymerases // *FEBS Lett.*—1987.—219.—P. 151—155.
4. Чиджавадзе З. Г., Бибилашвили П. III., Розовская Т. А. и др. Конформационно ограниченные нуклеозид-5'-трифосфаты как терминаторные субстраты ДНК полимераз // *Молекуляр. биология*.—1989.—23, № 6.—С. 1732—1742.
5. Stavudine (Zerit) // *Drugs Fut.*—1995.—20, N 20.—P. 1088—1089
6. Stavudine (Zerit) // *Ibid.*—1996.—21, N 10.—P. 1084—1086.
7. Riddler S. A., Anderson R. E., Mellors Z. M. Antiretroviral activity of stavudine (2',3'-didehydro-3'-deoxy thymidine, D4T) // *Antivir. Res.*—1995.—23, N 3.—P. 189—193.
8. Pavia A. T., Gathe J. Clinical efficacy of stavudine (D4T zerit) compared to zidovudine (ZDV, Retrovir) in ZDV-pretreated HIV positive patients // 35th Intersci. Conf. Antimicrob. Agents Chemother. (Sept. 17—20, San Francisco): Abstrs.—San Francisco, 1995.—P. 1169.
9. Herdewijn P., Balzarini J., De Clerq E. et al. 3'-Substituted 2',3'-dideoxynucleoside analogues as potential anti-HIV (HIV LAV) agents // *J. Med. Chem.*—1987.—30, N 7.—P. 1270—1278.
10. Baba M., Pauwels R., Herdewijn P. et al. Both 2',3'-dideoxythymidine and its 2',3'-unsaturated derivative (2',3'-dideoxythymidine) replication in vitro // *Biochem. and Biophys. Res. Commun.*—1987.—142.—P. 128—134.
11. Chu C. K., Schinazi I. K., Arnold B., Cannon D. L. et al. Comparative activity of 2',3'-saturated and unsaturated pyrimidine and purine nucleosides against human immunodeficiency virus type 1 in peripheral blood mononuclear cells // *Biochem. Pharmacol.*—1988.—37, N 10.—P. 3343—3348.
12. Joshi B. V., Reese C. B. Synthesis of base sensitive 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxynucleotides // *Abstrs of MRC AIDS Directed Progr Workshop*.—Warwick: Univ. publ., 1991.
13. Koshida R., Cox S., Harmenberg J. et al. Structure-activity relationships of fluorinated nucleoside analogs and the synergistic effect in combination with phosphonoformate against HIV type 1 // *Antimicrob. Agents Chemother.*—1989.—33, N 10.—P. 2083—2088.
14. Wakayama T., Asai T., Okazoe T. et al. Nucleoside analogs with vinylfluoride structure: synthesis and anti-HIV activity // *Nucl. Acids Res., Symp. Ser.*—1991.—25.—P. 191—192.
15. Kravetsky A. A., Watanabe K. A. Modified nucleosides as anti-AIDS drugs: Current status and perspectives // *Bioinform.*—Moscow, 1993.—P. 219.
16. Horwitz J. P., Chua J., Klundt I. L. et al. The introduction of unsaturation in to the carbohydrate of a pyrimidine nucleoside via a 2',3'-anhydro bond // *J. Amer. Chem. Soc.*—1964.—82, N 9.—P. 1896—1897.
17. Horwitz J. P., Chua J., Du Rooge M. A. et al. The formation of 2',3'-unsaturated pyrimidine nucleosides via a novel β -elimination reaction // *Ibid.*—1966.—84, N 1.—P. 205—208.
18. Horwitz J. P., Chua J., Noel M., Donatti J. T. 2',3'-Dideoxycytidine // *J. Org. Chem.*—1967.—32, N 3.—P. 817—819.
19. Tai-Shun Liu, Jing-Hua Yang, You Song Cao Synthesis of 2',3'-unsaturated and 2',3'-dideoxy analogs of 6-azapyrimidine nucleosides as potential anti-HIV agents // *Nucleosides and Nucleotides*.—1990.—9, N 1.—P. 97—108.
20. Mansuri M. M., Starret J. E., Ghazzouli I. et al. 1-(2,

- 3-Dideoxy- β -D-glycero-pent-2-enofuranosyl) thymine. A highly potent selective anti-HIV agent // *J. Med. Chem.*—1989.—32, N 5.—P. 461—466.
21. Vial J. M., Agback P., Chattopadhyaya J. A new synthesis of 1-(2',3'-dideoxy- β -D-glycero-pent-2-enofuranosyl)-thymine. A highly potent and selective anti-HIV agent // *Nucleosides and Nucleotides.*—1990.—9, N 2.—P. 245—259.
22. Dudycz L. W. Synthesis of 2',3'-dideoxyuridine via the Corey-Winter reaction // *Ibid.*—1989.—8, N 1.—P. 35—41.
23. Chu C. K., Ullas G. V., Jeong L. S. et al. Synthesis and Structure-activity relationships of 6-substituted 2', 3'-dideoxypurine nucleosides as potential anti-HIV agents // *J. Med. Chem.*—1990.—33, N 6.—P. 1553—1561.
24. Robins M. J., Hansske F., Low N. H., Park J. J. A mild conversion of vicinal diols to alkenes. Efficient transformation of ribonucleosides into 2'-ene and 2',3'-dideoxynucleosides // *Tetrahedron Lett.*—1984.—25, N 4.—P. 367—370.
25. Chu C. K., Bharti V. S., Doboszewski B. et al. General syntheses of 2', 3'-dideoxynucleosides and 2',3'-dideoxy-2',3'-dideoxynucleosides // *J. Org. Chem.*—1989.—54, N 9.—P. 2217—2225.
26. Mc Donald J. E., Gleason M. M. Asymmetric synthesis of stavudine (d₄T) and cordycepin by cycloisomerization of alkyl alcohols to endocyclic and ethers // *Angew. Chem. Int. Ed. Engl.*—1995.—35, N 3.—P. 350—354.
27. Lipshutz B. H., Stevens R. L., Lowe R. F. A novel route to the anti-HIV nucleoside d₄T // *Tetrahedron Lett.*—1995.—36, N 6.—P. 2711—2713.
28. Verheyden J. P. H., Moffatt J. G. Halo sugar nucleosides. II. Jotiation of secondary hydroxy groups of with methyltriphenoxyphosphonium iodide // *J. Org. Chem.*—1965.—30, N 9.—P. 2868—2877.
29. Verheyden J. P. H., Moffatt J. G. Halo sugar nucleosides. III. Reactions for the chlorination and bromination of nucleoside hydroxyl groups // *Ibid.*—1972.—37, N 14.—P. 2289—2299.
30. Codington J. F., Doerr J. L., Fox J. J. Synthesis of 2'-fluorothymidine, 2'-fluorodeoxyuridine and other 2'-halogeno-2'-deoxynucleosides // *Ibid.*—1964.—29, N 3.—P. 558—564.
31. Codington J. F., Doerr J. L., Fox J. J. Structure of the 2'-halogeno-2'-deoxypyrimidine nucleosides // *Ibid.*—1964.—29, N 3.—P. 564—569.
32. Garegg P. J., Samuelsson B. Conversion of vicinal diols into olefins using triphenylphosphine and triiodoimidazole // *Synthesis.*—1979.—N 3.—P. 469.
33. Garegg P. J., Samuelsson B. Novel reagent system for converting a hydroxy-group into an iodo-group in carbohydrates with inversion of configuration // *Ibid.*—N 4.—P. 813—814.
34. Garegg P. J., Samuelsson B. Novel reagent system for converting a hydroxy-group into an iodo-group in carbohydrates with inversion of configuration // *J. Chem. Soc., Perkin Trans 1.*—1980.—N 12.—P. 2866—2868.
35. Garegg P. J., Johnatsson R., Ortega C., Samuelsson B. A new and versatile method for the preparation of unsaturated sugars // *Ibid.*—1982.—N 7.—P. 681—683.
36. Костина В. Г., Шаламай А. С., Усенко Л. С., Гладкая В. А. Рециклизация O₂,2'-циклопиримидиннуклеозидов с использованием галогидропроизводных трехвалентного фосфора и квазифосфониевых солей // *Биополимеры и клетка.*—1997.—13, № 3.—P. 197—201.
37. Framageout H. P. M., Griffin B. L., Reese C. B., Sulston J. E. 1- β -D-Arabinofuranosyl 5-fluorocytosine and related arabinonucleosides // *J. Med. Chem.*—1966.—9, N 1.—P. 101—105.

Прийшла до редакції 07.04.98