

Рециклизация $O_2,2'$ -циклопиримидиннуклеозидов с использованием галоидпроизводных трехвалентного фосфора и квазифосфониевых солей

В. Г. Костина, А. С. Шаламай, Л. С. Усенко, В. А. Гладкая

Институт молекулярной биологии и генетики НАН Украины
252143, Киев, ул. Академика Заболотного, 150

Изучено нуклеофильное расщепление $O_2, 2'$ -циклосвязи в пиримидиновых нуклеозидах с участием галоидводородов in situ при гидролизе галоидпроизводных фосфора. Показано, что скорость основной реакции предопределяется легкостью их гидролиза и зависит, прежде всего, от их нуклеофильных свойств.

Введение. $2'$ -Галоид- $2'$ -дезоксинуклеозиды пиримидинового ряда представляют интерес как исходные активные синтоны для синтеза $2'$ -дезоксирибозидов с модифицированными агликонами, известных как эффективные противовирусные препараты — 5-фтор-, 5-трифторметил- и 5-йод- $2'$ -дезоксинуридин [1]. С другой стороны, $2'$ -галоид- $2'$ -дезоксинуклеозиды — $2'$ -фтор- $2'$ -дезоксид- β - D -арабинофуранозиды урацила, цитозина и аденина — также являются противовирусными соединениями [2].

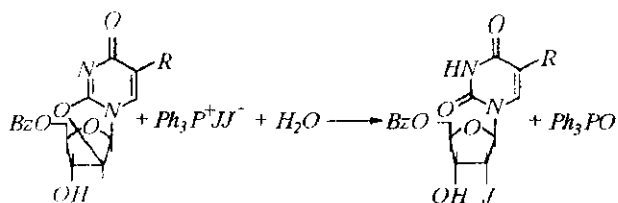
Ранее Фокс и соавт. показали, что перспективным методом получения $2'$ -галоид- $2'$ -дезоксипиримидиннуклеозидов может быть реакция рециклизации $O_2,2'$ -циклопроизводных с участием соответствующих галоидводородов. Однако предложенный вариант реакции был не эффективен из-за жестких условий процесса — длительного нагревания диоксанового или трифторуксусного растворов под давлением в ампуле. Было показано, что реакция протекает через стадию кислотного катализа с образованием промежуточного N_3 -протонированного $O_2,2'$ -циклопроизводного нуклеозида [3]. Последующая нуклеофильная атака галоиданионом C_2 -атома фуранозы завершается образованием $2'$ -галоид- $2'$ -дезоксизамещенного нуклеозида [3, 4].

Позже авторы работ [5, 6] обнаружили, что циклонуклеозиды могут расщепляться также галоидпиримидиниевыми солями. В частности, $5'$ - O -трифтил- $O_2,3'$ -циклотимидин под действием гидрохлорида или гидройодида пиридина в ДМФА превращается в соответствующие $3'$ -хлор- или $3'$ -йод- $3'$ -дезокситимидины.

Весьма интересной является реакция $O_2,3'$ -циклотимидина с участием трифеноксиметилфосфоний йодида $(PhO)_3P^+MeI^-$, приводящая к образованию $3'$, $5'$ -дийод- $3'$, $5'$ -дидезокситимидина. Авторы работы [5] предположили, что раскрытие ангидросвязи происходит с участием йодистого водорода, образующегося при гидролизе фосфоний йодида следами влаги, внесенной в реакционную среду растворителем. Аналогичная реакция с участием воды была изучена нами на примере взаимодействия $5'$ - O -бензоил- $O_2,2'$ -циклоуридина (I) с трифенил-йодфосфоний йодидом $Ph_3P^+I^-$ (см. схему I).

Раскрытие ангидросвязи протекает в мягких условиях с довольно высоким выходом $2'$ -йод- $2'$ -дезоксинуридина [7].

Учитывая доступность галоидфосфорных производных, целесообразно было изучить с их участием рециклизацию $O_2,2'$ -циклонуклеозидов и тем самым разработать новые оригинальные способы получения $2'$ -галоид- $2'$ -дезоксинуклеозидов.



Материалы и методы. В соответствии с известными методиками [8, 9] нами синтезированы исходные 5'-O-бензоил-О₂,2'-циклопроизводные уридина (I) и тиминрибозида (II). Галопроизводные фосфора представлены общей формулой: A_nPX_m, в частности: (n = O, m = 3) PX₃ — трехгалогидный фосфор — PCl₃ (IIIa), PBr₃ (IIIb); (A = PhO, n = 3, m = 2) (PhO)₃P⁺J⁻ (IVc) — трифеноксиодфосфоний йодид; (A = Ph, n = 3, m = 2) Ph₃P⁺XX⁻ — трифенилгалоидфосфоний галогениды: Ph₃P⁺ClCl⁻ (Vb), Ph₃P⁺BrBr⁻ (Vc); (A = Et₂N, n = 3, m = 2) (Et₂N)₃P⁺X⁻X⁻ — трис-(N, N-диэтиламино) — галоидфосфоний галогениды: (Et₂N)₃P⁺ClCl⁻ (VIa), (Et₂N)₃P⁺BrBr⁻ (VIb), (Et₂N)₃P⁺JJ⁻ (VIc).

Хлорфосфорпроизводные Vb и VIa получали *in situ* вследствие взаимодействия непосредственно в реакционной среде фосфина Ph₃P или фосфамида (Et₂)₃P с дихлорйодбензолом PhJCl₂. Соединения IVc, Vc, VIb, c в основной реакции также использовали *in situ*, т. е. при смешении исходных фосфина, фосфита и фосфамида Ph₃P, (PhO)₃P, (Et₂N)₃P с бромом или йодом соответственно.

Рециклизацию соединений I и II проводили в заведомо влажном диоксана, предварительно удалив перекиси при отгонке его над CuCl.

Данные элементного анализа соединений были близкими к расчетным и их отклонения находились в пределах ±0,3%. Тонкослойную хроматографию (ТСХ) выполняли на пластинках Kieselgel F₂₅₄ («Merck», ФРГ) в системах растворителей при соотношении CHCl₃:MeOH 4:1 (A) или 9:1 (B). Колоночную хроматографию (КХ) проводили на силикагеле Kieselgel G-60 («Merck»). Температуру плавления соединений определяли на приборе Бэтиуса (ФРГ). ¹H-ЯМР-спектры записывали на приборах «Bruker WP-200» (200 МГц) или «Varian VXP-300» (300 МГц) (США) в CDCl₃ с внутренним стандартом ТМС. Химические сдвиги (σ) сигналов протонов приводили в величинах м. д. и константы спин-спиновой взаимодействия (J) — в герцах.

а) Реакции О₂,2'-циклонуклеозидов I или II с PX₃ (IIIa, b). К раствору 0,098 ммоль PX₃ (III a, b) в 3 мл диоксана прибавляли при перемешивании 0,29 ммоль соединений I или II. Через 0,5—2 ч реакционную смесь разбавляли 12 мл CHCl₃, про-

мывали водой (3 × 6 мл) до отсутствия H₃PO₃ (во всех случаях контроль ТСХ). Органический слой отделяли, высушивали над Na₂SO₄ и упаривали в вакууме досуха.

Аналитические образцы VIIa, b и VIIIb получали кристаллизацией из водных растворов этанола или изопропанола. Температура плавления VIIa 87—89 °С, VIIIb 111—112 °С, VIIb 89—91 °С. ТСХ: R_f 0,42 и 0,44, 0,48 (B) соответственно.

¹H-ЯМР-спектры: 2'-бромпроизводного VIIIb: 11,47 с (1H, N₃-H), 8,01—7,62 м (5H, бензоильные протоны), 7,53 д (1H, J₆₋₅ = 7,2, H₆), 6,16 д (2H, J_{1'-2'} = J_{2'-1'} = 5,4, H_{1', H_{2'}}), 5,57 д (1H, J₅₋₆ = 7,2, H₅), 4,82 т (1H, J_{3'-2'} = J_{3'-4'} = 5,1, H₃), 4,62—4,46 м (2H, H_{5', 5''}), 4,34—4,18 м (1H, H₄); 2'-бромпроизводного VIIIb: 11,51 с (1H, N₃-H), 8,06—7,50 м (5H, протоны бензоильной группы), 7,46 с (1H, H₆), 6,18 д (1H, J_{1'-2'} = 6,6, H_{1'}), 4,79 дд (1H, J_{2'-1'} = 6,6, J_{2'-3'} = 4,2, H_{2'}), 4,64—4,46 м (2H, H_{3', H_{4'}}), 4,30—4,22 м (2H, H_{5', 5''}).

б) Реакция О₂,2'-циклонуклеозидов I с (PhO)₃P⁺JJ⁻ (IVa). К раствору 0,26 ммоль трифенилфосфита в 3 мл диоксана прибавляли 0,26 ммоль йода и через 15 мин — 0,432 ммоль соединения I. Спустя 30 мин реакционную массу разбавляли 20 мл CHCl₃ и последовательно промывали 5 %-м раствором NaHCO₃ (20 × 20 мл), водой (2 × 10 мл). Органический слой высушивали над Na₂SO₄, упаривали в вакууме досуха и остаток подвергали КХ. Продукты реакции элюировали CHCl₃, затем смесью CHCl₃:MeOH (95:5) (200 мл).

Температура плавления 2'-йоднуклеозидов VIIIc 88—89 °С. ТСХ: R_f 0,40 (A). ¹H-ЯМР-спектр: 11,48 с (1H, N₃-H), 8,00—7,65 м (5H, аром. H), 7,56 д (1H, J₆₋₅ = 8,5, H₆), 6,24 дд (2H, J_{1'-2'} = J_{2'-1'} = 7,2, H_{1', H_{2'}}), 5,62 д (1H, J₅₋₆ = 8,5, H₅), 4,74 т (1H, J_{3'-4'} = J_{3'-2'} = 6, 7, H₃), 4,50—4,46 м (3H, H_{4', H_{5', 5''}}).

в) Реакции О₂,2'-циклонуклеозидов I или II с Ph₃P⁺XX⁻ (Vb, c). К раствору 0,32 ммоль трифенилфосфина в 6 мл диоксана прибавляли 0,32 ммоль дихлорйодбензола или 0,32 ммоль брома и к перемешиваемой смеси через 20 мин присыпали 0,518 ммоль соединений I или II. Спустя 30 мин реакционную массу обрабатывали аналогично вышеприведенной методике б. Выделенные 2'-галоидпроизводные VIIa, b по своим физико-химическим характеристикам соответствовали вышеописанным образцам (методики а и б).

г) Реакция О₂,2'-циклонуклеозидов I с (Et₂N)₃P⁺XX⁻ (Va—c). 2'-Хлорнуклеозид VIIa получали при смешении 0,40 ммоль трис-диэтиламинофосфита и 0,40 ммоль дихлорйодбензола в 4 мл диоксана с последовательным добавлением

0,60 ммоль соединения I. Смесь выдерживали при 20 °С в течение 2 сут и затем 2'-хлорпроизводное VIIa выделяли описанным способом (методика б).

2-Бромнуклеозид VIIb получали аналогично. К раствору 0,454 ммоль (Et₂N)₃P в 6 мл диоксана добавляли 0,453 ммоль брома и после обесцвечивания реакционной массы присыпали 0,698 ммоль соединения I. Смесь выдерживали при 20 °С в течение 2 сут и нуклеозид VIIb выделяли аналогично описанной методике б.

2'-Йоднуклеозид VIIc получали аналогично 2-бромнуклеозиду VIIb с той лишь разницей, что реакционную смесь перемешивали в течение 5 ч при 40 °С.

д) Бромирование O₂,2'-циклонуклеозида I без выделения продуктов реакции. Суспензию эквивалентных количеств соединения I, Na₂CO₃ и брома в сухом диоксане перемешивали при 20 °С в течение 18 ч. С помощью ТСХ в системе В в реакционной смеси обнаружили пятна различной интенсивности соединений с R_f 0,14 для 5'-О-бензоил-5-бром-O₂,2'-циклоуридина (IX), 2'-бром-2'-дезоксинуклеозида (VIIb) — 0,44 и 5'-О-бензоил-2,5-дибром-2'-дезоксуридина (X) — 0,60. После добавления еще одного эквивалента брома через 18 ч обнаружили единственное интенсивное пятно, соответствующее дибромиду (X).

е) Бромирование O₂,2'-циклонуклеозида I с выделением продуктов реакции. Суспензию 4,78 ммоль соединения I, Na₂CO₃ и брома в 25 мл сухого диоксана перемешивали при 20 °С в течение 18 ч. Реакционную смесь фильтровали, фильтрат упаривали, остаток дважды подвергали КХ (система А). Выделенные продукты кристаллизовали из подобранного растворителя.

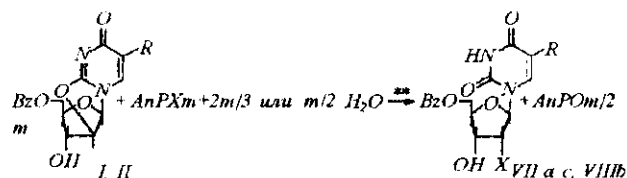
Выходы составили: 2'-бромнуклеозида VIIb —

3,5 %, 5-бромциклонуклеозида IX — 7,0 % и 2',5-дибром-дезоксуридина X — 62 %.

Температура плавления соответственно: VIIb — 111—112 °С (изопропанол), IX — 176—178 °С (этанол), X — 174—178 °С (этанол).

¹H-ЯМР-спектры соединения IX: 8,50 с (1H, H₆), 7,90—7,85 м (5H, бензоильные протоны), 6,33 д (1H, J₂₋₁ = 6,6, H₂), 6,16 д (1H, J₁₋₂ = 4,2, H₁), 5,34 д (1H, J₃₋₂ = 6,6, H₃), 4,64 уш. с (1H, 3'-OH), 4,42—4,22 м (3H, H₄, H_{5,5'}); дибромпроизводного X: 11,99 с (1H, N₃-H), 8,06 с (1H, H₆), 8,02—7,48 м (5H, бензоильные протоны), 6,17 д (1H, J₂₋₁ = 6,6, H₂), 6,14 д (1H, J₁₋₂ = 5,7, H₁), 4,87 т (1H, J₃₋₂ = 5,7, H₃), 4,64—4,50 м (2H, H_{5,5'}), 4,30—4,22 м (1H, H₄).

Обсуждение результатов. Синтезы 2'-галоид-2'-дезоксипроизводных уридина VIIa—с и тимидинрибозида VIIb осуществляли по схеме 2. Основные параметры приводимых реакций и характеристики полученных соединений приведены в таблице и в общих методиках получения.



*R = H — I, R = CH₃ — II; **для реакции с IIIa, б необходимо количество воды, кратное *m* (3), с IVc, Va, b, VIa—с — *m* — I (2); в первом случае побочный продукт — фосфористая кислота, во втором — соответствующая окись A₃PO.

Основные параметры реакций и выход полученных 2'-галоид-2'-дезоксипроизводных

O ₂ , 2'-Циклонуклеозид	Галоидфосфорное производное	Время реакции, ч (t, °C)	2'-Галоид 2'-дезоксинуклеозид	Выход, %
I	PCl ₃ , IIIa	0,5 (12)	VIIa	89
I	PBr ₃ , IIIb	2,0 (12)	VIIb	98
II	PBr ₃ , IIIb	0,5 (12)	VIIIb	74
I	(PhO) ₃ P ⁺ J ⁻ , IVc	0,5 (20)	VIIc	93
I	Ph ₃ P ⁺ ClCl ⁻ , Va	0,3 (20)	VIIa	94
II	Ph ₃ P ⁺ BrBr ⁻ , Vb	0,5 (12)	VIIIb	92
I	(Et ₂ N) ₃ P ⁺ ClCl ⁻ , VIa	48 (20)	VIIa	70
I	(Et ₂ N) ₃ P ⁺ BrBr ⁻ , VIb	48 (20)	VIIb	98
I	(Et ₂ N) ₃ P ⁺ JJ ⁻ , VIc	50 (40)	VIIc	92

В приведенном в таблице ряду галоидфосфорных производных их гидролитическая устойчивость постепенно возрастает по мере роста нуклеофильности атома фосфора. Так, самыми устойчивыми к гидролизу являются фосфамидные производные $(Et_2N)_3P^+X^-$ (VIa—с), гидролизующиеся при кипячении с водой. В случае применения сухого абсолютного растворителя было замечено, что даже с наиболее активными производными IIIa, b, IVc, Va, b реакции рециклизации существенно замедляются или не доходят до конца. Это подтверждает предположение о прохождении параллельного процесса гидролиза исходных соединений формулы A_nPX_m .

Важным фактором, влияющим на ход реакции, является растворитель. Выбор диоксана в качестве растворителя был обусловлен тем, что он может выполнять функции агента, повышающего нуклеофильные свойства галоидиона. Известно, что диоксан с галоидводородами образует соответствующие оксониевые производные и тем самым участвует в активации и переносе галоидиона.

Необходимо было иметь в виду то обстоятельство, что при высокой реакционной способности галоидфосфитов A_nPX_m и при наличии свободной гидроксильной группы при C_3 -атоме соединений I и II не исключался вариант взаимодействия по механизму реакции Арбузова. В этом случае продуктами реакции могли быть 3'-галоид-3'-дезоксид- O_2 , 2'-нуклеозидные производные. Затем галоидводород, образующийся как побочный продукт, мог участвовать в последующей рециклизации O_2 , 2'-цикловсвязи в промежуточном соединении. Конечными продуктами этих превращений должны быть 2', 3'-транс-дигалоид-2', 3'-дидезоксинуклеозиды.

В случае образования дийодидных производных они могли претерпевать трансформацию по описанному механизму [7] вплоть до 2', 3'-дидегидро-2', 3'-дидезоксинуклеозидов. Однако в ходе изучения строения синтезированных соединений, кроме 2'-галоид-2'-дезоксипроизводных VIIa—с, VIIIb, других соединений не было обнаружено.

Наиболее активными в реакциях рециклиза-

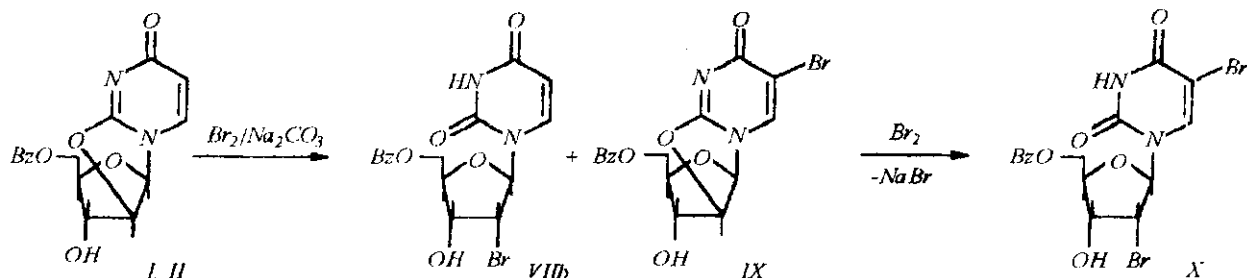
ции были галоидфосфиты IIIa, b. Одним из преимуществ их является то, что образующаяся как побочный продукт фосфористая кислота легко удаляется при выделении основных 2'-галоиднуклеозидов VIIa, b. Активными также являются фосфорные производные IVc, Va, b. Однако выделение продуктов реакций и освобождение их от продуктов гидролиза $(PhO)_3PO$ и Ph_3PO возможно только с применением КХ.

Было установлено, что особое внимание следует уделять качеству исходных галоидфосфитов и, прежде всего, трехбромистого фосфора. Наличие в нем следов брома приводило к побочному bromированию пиримидинового гетероцикла исходного циклонуклеозида, и реакция оканчивалась образованием смеси соединения VIIIb и 2', 5-дибромпроизводного X.

Для идентификации продуктов этого побочного процесса и получения сравнительной информации для изучаемой основной реакции было проведено bromирование O_2 , 2'-циклонуклеозида I в присутствии карбоната натрия. В литературе описано bromирование 2, 2'-ангидроуридина с образованием 2', 5-дибромуридина без выделения промежуточных продуктов [11].

Кристаллический карбонат натрия на первом этапе реакции частично выполнял функции агента, связывающего выделяющийся бромистый водород. Такой подбор условий реакции способствовал образованию всех трех продуктов — VIIIb, IX и X, которые были выделены и строение которых доказано с помощью ПМР-спектров. Применение двойного эквивалента брома приводило к образованию исключительно 2', 5'-дибром-2'-дезоксинуклеозида X (схема 3).

Строение синтезированных 2'-галоид-2'-дезоксинуклеозидов VIIa—с, VIIIb и X было подтверждено с помощью ПМР-спектров. Основная характеристика 2'-замещения связана с существенными слабопольными смещениями сигналов $H_{1'}$ и $H_{2'}$ -протонов углеводного фрагмента по сравнению со смещениями сигналов тех же протонов в незамещенных нуклеозидах ($H_{1'}$ — 5,81, $H_{2'}$ — 4,61 м. г.).



Количественные величины химсдвигов сигналов этих протонов в 2'-галюид-2'-дезоксинуклеозидах VIIa—с, VIIIb и X непосредственно зависят от электроотрицательности введенного атома галюида.

В ходе изучения вариантов реакции рециклизации O₂, 2'-циклопиримидиннуклеозидов с участием галюидоводородов, образующихся вследствие промежуточного процесса гидролиза галюидфосфронных производных, были подобраны оптимальные условия получения 2'-галюид-2'-дезоксипроизводных уридинового ряда. Показано, что наиболее удобным способом синтеза этих соединений с высоким выходом являются реакции с участием соединений трехгалюидного фосфора общей формулы PX₃. Учитывая способность к гидролизу галюидпроизводных пятивалентного фосфора строения PX₅, POX₃, RPOX₂, R₂POX, вероятно, успешным может быть их применение в изученной реакции.

V. G. Kostina, A. S. Shalamay, L. S. Usenko, V. A. Gladkaya

Рециклізація O₂, 2'-циклопиримидиннуклеозидів з використанням галюпохідних трьохвалентного фосфора та квазіфосфонієвих солей

Резюме

Вивчено нуклеофільне розщеплення O₂, 2'-циклозв'язку у піримідинових нуклеозидах з участю галюгенводнів in situ при гідролізі галюгенпохідних трьохвалентного фосфору та квазіфосфонієвих солей. Показано, що швидкість основної реакції визначається легкістю гідролізу цих вихідних сполук і залежить насамперед від їх нуклеофільних властивостей.

V. G. Kostina, A. S. Shalamay, L. S. Usenko, V. A. Gladkaya

Recyclization of O₂, 2'-cyclopyrimidinucleosides with the use of haloid derivatives of threevalent phosphor and quasiphosphonic salts

Summary

The study of O₂, 2'-cyclopyrimidinucleoside recyclization reaction in the presence of haloid hydrats which are formed due to the

appropriate haloid phosphor compounds hydrolysis in a humid dioxan is presented. The effective methods of 2'-haloid-2'-deoxynucleoside synthesis are developed.

СПИСОК ЛІТЕРАТУРИ

1. Prusoff W. H., Goz B. Antineoplastic and immunosuppressive agents // Eds A. Sartorelli, D. Johns.—Berlin: Springer, 1975.—Pt II.—P. 272—347.
2. Fox J., Lopez C., Watanabe K. Medicinal chemistry advances // Eds F. Lasteras, S. Vega.—New York: Perg. press, 1981.—P. 27—40.
3. Codington J. F., Doerr J. L., Fox J. J. Synthesis of 2'-fluorothymidine, 2'-fluorodeoxyuridine and other 2'-halogeno-2'-deoxynucleosides // J. Org. Chem.—1964.—29, N 3.—P. 558—564.
4. Codington J. F., Doerr J. L., Fox J. J. Structure of the 2'-halogeno-2'-deoxypyrimidine nucleosides // Ibid.—P. 564—569.
5. Verheyden J. P. H., Moffatt J. G. Reactions for chlorination and bromination of nucleoside hydroxyl groups // Ibid.—1972.—37, N 14.—P. 2289—2299.
6. Verheyden J. P., Moffatt J. G. Iodination of secondary hydroxyl groups of nucleosides with methyltriphenoxyposphonium iodide // Ibid.—1970.—35, N 9.—P. 2868—2877.
7. Костина В. Г., Шаламай А. С., Усенко Л. С. Синтез 2', 3'-дидегидро-2', 3'-дидезоксиуридина с участием трифенилфосфонієвих іодидів // Біополімери і клітка.—1996.—12, N 4.—С. 100—106.
8. Hrebabecky H., Beranek J. 5'-Halogeno-2',3'-cyclic sulphites isomers in the preparation of 5'-halogeno nucleosides synthesis // Nucl. Acids Res.—1978.—5, N 3.—P. 1029—1039.
9. Hrebabecky H., Beranek J. 5'-Halogeno-2',3'-sulphites in the synthesis of 2',5'-dideoxy-5-fluorouridine and related analogues // Collect. Czech. Chem. Commun.—1978.—43.—P. 3268—3278.
10. Марченко А. П., Ковеня В. А., Пинчук А. М. Трис-(N,N-диалкіламідо)-хлорфосфоній хлориди // Журн. орг. хімії.—1978.—48, № 3.—С. 551—558.
11. Meresz M., Glorvath G., Sohar P., Kuszmann J. Bromination of 2, 2'-anhydrouridine // Tetrahedron.—1975.—N 5.—P. 1873.

УДК 577.113.3

Поступила в редакцію 24.12.96