

АКАДЕМИЯ НАУК БЕЛАРУСИ
ИНСТИТУТ БИООРГАНИЧЕСКОЙ ХИМИИ

На правах рукописи

СИВЕЦ Григорий Гаврилович

УДК 547.455' 715' 857.7' 853.3

АНГИДРО-САХАРА И -НУКЛЕОЗИДЫ В СИНТЕЗЕ МОДИФИЦИРОВАННЫХ
В УГЛЕВОДНОМ ФРАГМЕНТЕ НУКЛЕОЗИДОВ

02.00.03 - Органическая химия

А В Т О Р Е Ф Е Р А Т
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

МИНСК 1993

97

Д.В.36.499

Работа выполнена в лаборатории химии полинуклеотидов
ЛННБ України ім.В.Стефаніка

Ак



00760654 (S)

Научный руководитель

доктор химических наук
михайлопуло И.А.

Официальные оппоненты: -

доктор химических наук
профессор Ухова Л.И.

- кандидат химических наук
доцент Кузьменок Н.М.

Ведущая организация

- Белорусский государственный университет

Защита диссертации состоится "___" _____ 1993 г.
в "___" часов на заседании специализированного совета
Д 006.22.01. по защите диссертаций на соискание ученой
степени доктора химических наук при Институте биооргани-
ческой химии АНБ (г.Минск, ул .Лодинская, 5/2, зал засе-
даний Ученого совета

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Инсти-
тута биоорганической химии АНБ.

Автореферат разослан "___" _____ 1993 г.

Ученый секретарь
специализированного совета
кандидат химических наук

Литвинко /Литвинко Н.М./

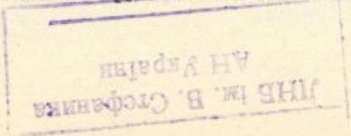
С Институт биоорганической химии АНБ, 1993

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Известно, что аналоги природных рибо- и 2'-дезоксирибонуклеозидов, модифицированные в гетероциклическом основании и/или углеводном фрагменте молекулы являются исключительно важным источником противовирусных препаратов. Вероятность обнаружения соединений с перспективной активностью в отношении широкого спектра вирусов в ряду модифицированных нуклеозидов значительно выше в сравнении с любым другим классом органических соединений. Обнаружение (1985 г.) высокой активности в отношении вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) у 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина (азидотимидин, AZT), а также стремительное включение его в медицинскую практику (1987 г.), стимулировало исследования по синтезу разнообразных модифицированных нуклеозидов и изучению их биологических свойств в масштабах, которые не имеют прецедента. В результате два других представителя этого класса соединений - 2',3'-дидезоксицитидин и 2',3'-дидезоксиинозин - были разрешены в США к медицинскому применению (в 1991 и 1992 г., соответственно). Таким образом, разработка новых, более эффективных подходов к синтезу известных противовирусных препаратов, а также поиск новых аналогов является актуальной задачей и представляет несомненный интерес.

Цель настоящего исследования является дальнейшее изучение возможностей использования ангидропроизводных углеводов и нуклеозидов в синтезе модифицированных в углеводном фрагменте нуклеозидов.

Научная новизна. Разработаны препаративные методы синтеза 9-(β -D-ксилофуранозил)аденина и 3'-дезоксаденозина (нуклеозидного антибиотика кордицепина). Изучены химические превращения метил 2,3-ангидро- α , β -D-ликсофуранозида. Обнаружена эимеризация при C-3 атоме углерода метил 5-0-бензил-3-фтор-3-дезоксиде-2-кето- α -D-эритро-пентофуранозы и показана возможность использования этого превращения для синтеза разнообразных 3-фтор-3-дезоксиде- и 2-амино-3-фтор-2,3-дидезоксиде- α -D-пентофураноз. В результате осуществлен синтез ряда гликозилирующих агентов, которые использованы в синтезе нуклеозидов. Разработаны новые подходы к синтезу производных метил 2-дезоксиде- α , β -D-рибофуранозида, в том числе метил 3-азидо-5-0-трет-бутилдифенилсилил-2,3-дидезоксиде- α -D-эритро-пентофуранозида - гликозилирующего агента для



синтеза АЗТ и родственных соединений.

Положения, выносимые на защиту:

1. Новые методы синтеза 9-(β -D-ксилофуранозил)аденина и 3'-дезоксаденозина.
2. Синтез производных 3-фтор-3-дезоксидеокси- и 2-амино-3-фтор-2,3-дидезокси-D-пентофураноз.
3. Синтез 2'-амино-3'-фтор-2',3'-дидезоксирибонуклеозидов.
4. Новый подход к синтезу метилгликозидов с эритро- и трео-конфигурацией.
5. Синтез гликозилирующего агента для получения 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина.

Практическая значимость настоящей работы состоит в разработке препаративных методов синтеза ряда нуклеозидов [например, 3'-фтор-3'-дезоксаденозина и 9-(β -D-ксилофуранозил)аденина], которые представляют интерес для углубленного изучения их биологических свойств. Разработан препаративный метод синтеза метил 3-азидо-5-О-трет-бутилдифенилсиллил-2,3-дидезокси- β -D-эритропентофуранозида.

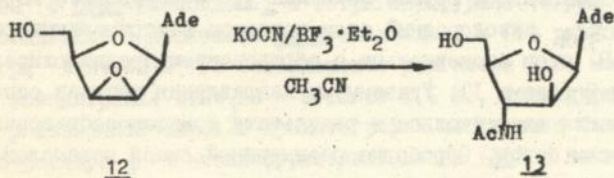
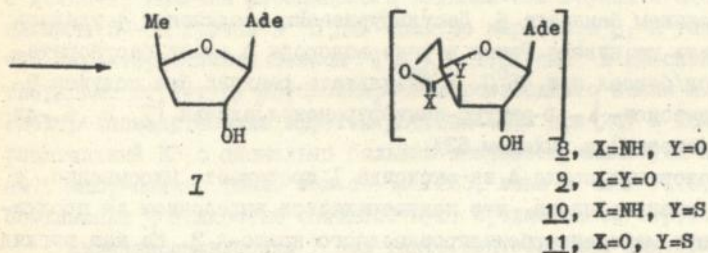
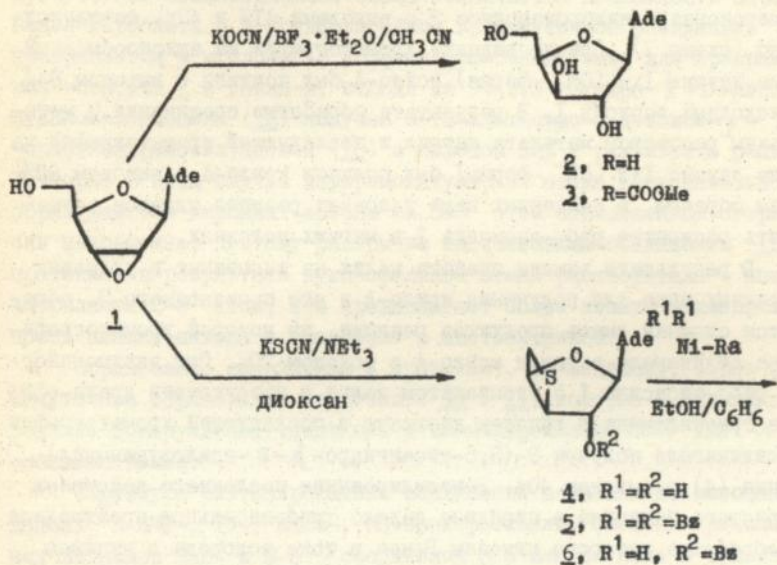
Публикации и апробация работ. По материалам диссертации опубликовано 13 печатных работ. Основные результаты работы докладывались на международных симпозиумах (Москва - 1986, Бехине - 1989), на конкурсах молодых ученых ИБОХ АН РБ (1984; II место), (1987, III место).

Структура и объем работы. Диссертация состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка литературы. Материал изложен на 148 страницах, включая 12 схем, 13 таблиц и список литературы, состоящий из 112 источников.

СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Преобразования 2',3'-эпоксипроизводных аденозина под действием цианат- и тиоцианат-анионов

9-(2,3-Ангидро- β -D-рибофуранозил)аденин (I) получен с выходом 83% без выделения промежуточных соединений из аденозина действием последовательно хлорангидрида ацетилсалициловой кислоты, раствора триэтиламина в метаноле и анионообменной смолы дауэкс Ix2 в OH^- -форме. В результате реакции эпоксида I с цианатом калия в присутствии краун-эфира и эфирата трехфтористого



бора в ацетонитриле при 20°C в течение 20 мин, обработки продукта реакции метанолом и последующей хроматографии на силикагеле были получены 9-(β -D-ксилофуранозил)аденин (2, ксило-А) и его 5'-метоксикарбонилпроизводное 3 с выходами 41% и 43%, соответственно (схема I). При проведении хроматографии на анионообменной смоле дауэкс Ix2 (ОН⁻-форма) ксило-А был получен с выходом 84% на исходный эпоксид I. В результате обработки соединения 3 метанольным раствором метилата натрия и последующей хроматографии на смоле дауэкс Ix2 (ОН⁻-форма) был получен ксило-А с выходом 86%. Таким образом, в найденных нами условиях реакции удается осуществить раскрытие рибо-эпоксида I в мягких условиях.

В результате замены цианата калия на тиоцианат в условиях описанных выше для получения ксило-А и его производного 3, образуется сложная смесь продуктов реакции, из которой хроматографией на силикагеле выделен ксило-А с выходом 20%. При взаимодействии рибо-эпоксида I с тиоцианатом калия в присутствии краун-эфира и триэтиламина в кипящем диоксане и последующей хроматографии на силикагеле получен 9-(3,5-тиоангидро- β -D-ксилофуранозил)аденин (4) с выходом 40%. Бензоилирование последнего действием хлористого бензоила в пиридине давало трибензоильное производное 5, обработка которого никелем Ренея в токе водорода в кипящем этаноле в течение 12 ч приводила к частичному дебензоилированию с образованием бензоата 6. Десульфуризацию соединения 4 удалось осуществить на никеле Ренея в токе водорода в смеси растворителей этанол/бензол при 45°C. В результате реакции был получен 9-(3,5-дидезокси- β -D-эритро-пентофуранозил)аденин (7, 3',5'-дидезоксиаденозин) с выходом 52%.

Образование ксило-А из эпоксида I протекает, несомненно, с участием цианат-аниона, что подтверждается выделением из продуктов реакции метоксикарбонилпроизводного ксило-А 3. На наш взгляд, первоначальным актом реакции является присоединение цианат-аниона к 5'-гидроксильной группе эпоксида I с образованием карбамат-аниона $\text{RO-C} \begin{matrix} \text{O} \\ \parallel \\ \text{NH} \end{matrix}$, кислородный атом которого внутримолекулярно атакует С-3' атом эпоксигольца с образованием предположительно соединения 8 (схема I). Указанному направлению реакции способствует активация эпоксигольца в результате комплексообразования с трехфтористым бором. Обработка реакционной смеси метанолом в присутствии силикагеля приводит, по-видимому, к замене имино-группы соединения 8 на оксо-функцию с образованием 3',5'-карбо-

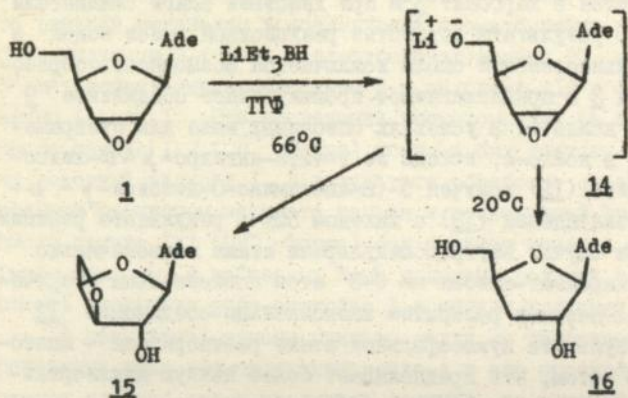
нилпроизводного ксило-А 2, которое в результате реакции с метанолом превращается в карбонат 3 и при действии влаги силикагеля дает ксило-А. В результате обработки реакционной смеси водой в присутствии сильноосновной смолы исключается возможность образования карбоната 3 и предполагаемое промежуточное соединение 9 превращается в ксило-А. В условиях описанных выше для превращения эпоксида 1 в ксило-А, исходя из 9-(2,3-ангидро-β-D-дигсофуранозил)аденина (12) получен 9-(3-ацетамидо-3-дезоксид-β-D-арабинофуранозил)аденин (13) с выходом 52% в результате реакции Риттера. В этом случае внутримолекулярная атака первоначально образующегося карбамат-аниона на С-3' атом эпоксицикла стерически невозможна. Поэтому раскрытие эпоксицикла соединения 12 протекает в результате нуклеофильной атаки растворителя - ацетонитрила на С-3' атом, что предполагает более низкую нуклеофильность цианат-аниона в сравнении с ацетонитрилом.

Образование соединения 4 протекает, по-видимому, через промежуточное образование соединений 10 и 11, которые в условиях реакции обнаруживают тенденцию к элиминированию HClO или CO₂, соответственно.

Структура синтезированных соединений доказана на основании данных ¹H ЯМР-, УФ-, масс-, КД-спектроскопии. Смещение резонансных сигналов Н-5' и Н-5'' соединения 3 в слабое поле в сравнении с ксило-А, наличие резонансного сигнала Оме-группы и отсутствие сигнала 5'-ОН группы в ¹H ЯМР спектре карбоната 3, а также наличие характеристической полосы ν_{C=O} = 1730 см⁻¹ в ИК-спектре подтверждают структуру метоксикарбонилпроизводного ксило-А. КД-спектр (положительные эффекты Коттона (КЭ) при 247 и 269 нм; отрицательный КЭ с аномально большим значением амплитуды при 217 нм), масс-спектр (мол. ион с m/z 265, ионы с m/z 178, 164) соединения 4 полностью соответствуют предложенной структуре.

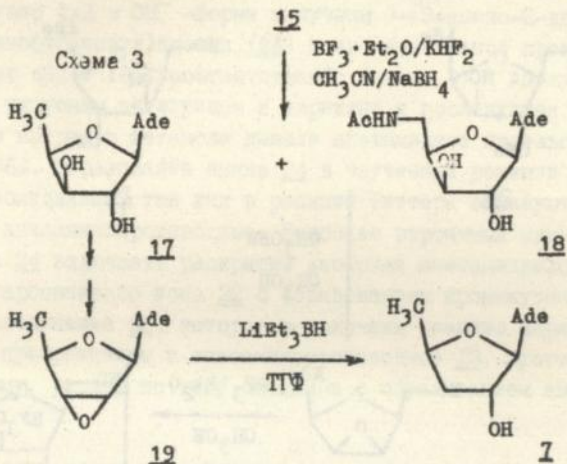
Дидезокси-нуклеозид 7 был также синтезирован альтернативным методом. С этой целью первоначально было изучено взаимодействие LiEt₃VN с рибозо-эпоксидом 1 в тетрагидрофуране (схема 2). Так, при добавлении к суспензии рибозо-эпоксида 1 в ТГФ равного объема раствора LiEt₃VN в ТГФ (соотношение реагентов 1:5, моль; начальная концентрация LiEt₃VN в смеси 0,6 М), последующем кипячении реакционной смеси и хроматографии неожиданно был выделен 9-(3,5-ангидро-β-D-ксилофуранозил)аденин (15) в качестве основного продукта реакции с выходом 67%. Восстановление эпокси-

Схема 2



кольца в соединении **1** удалось осуществить при добавлении раствора LiEt_3BH (1,2 М) в THF к порошкообразному **1** (соотношение реагентов **1**:5, моль) при комнатной температуре в атмосфере азота и последующего перемешивания реакционной смеси в течение 1 ч. В результате реакции 3'-деоксиаденозин **16** был выделен колоночной хроматографией на силикагеле с выходом 73%. Ангидронуклеозид **15** не образовывался в этом случае. Таким образом, при использовании LiEt_3BH в THF наблюдается двойное направление реакции: а) изомеризация 2',3'-эпоксикольца в 3',5'-ангидроцикл; б) восстановление 2',3'-эпоксикольца. Исходя из полученных результатов можно сделать вывод о том, что промежуточным соединением в рассмотренных трансформациях является **14** (схема 2). При кипячении в разбавленной реакционной смеси (0,6 М LiEt_3BH) происходит внутримолекулярная изомеризация интермедиата **14** с образованием термодинамически более стабильного 3',5'-ангидронуклеозид **15**. При взаимодействии эпоксидов **1** с 1,2 М LiEt_3BH при комнатной температуре происходит восстановление эпоксикольца в соединении **14** с образованием кордицепина **16**. 3',5'-Ангидронуклеозид **15**, как и следовало ожидать, оказался устойчивым к действию LiEt_3BH в THF в условиях аналогичных для эпоксида **1**. Восстановление 3',5'-ангидроцикла в соединении **15** удалось осуществить действием смеси реагентов $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O} / \text{KHF}_2 / \text{NaBH}_4$ в ацетонитриле при комнатной температуре. В результате обработки и последующей хроматографии на силикагеле выделены 5'-дезоксиналог ксило-А **17** и

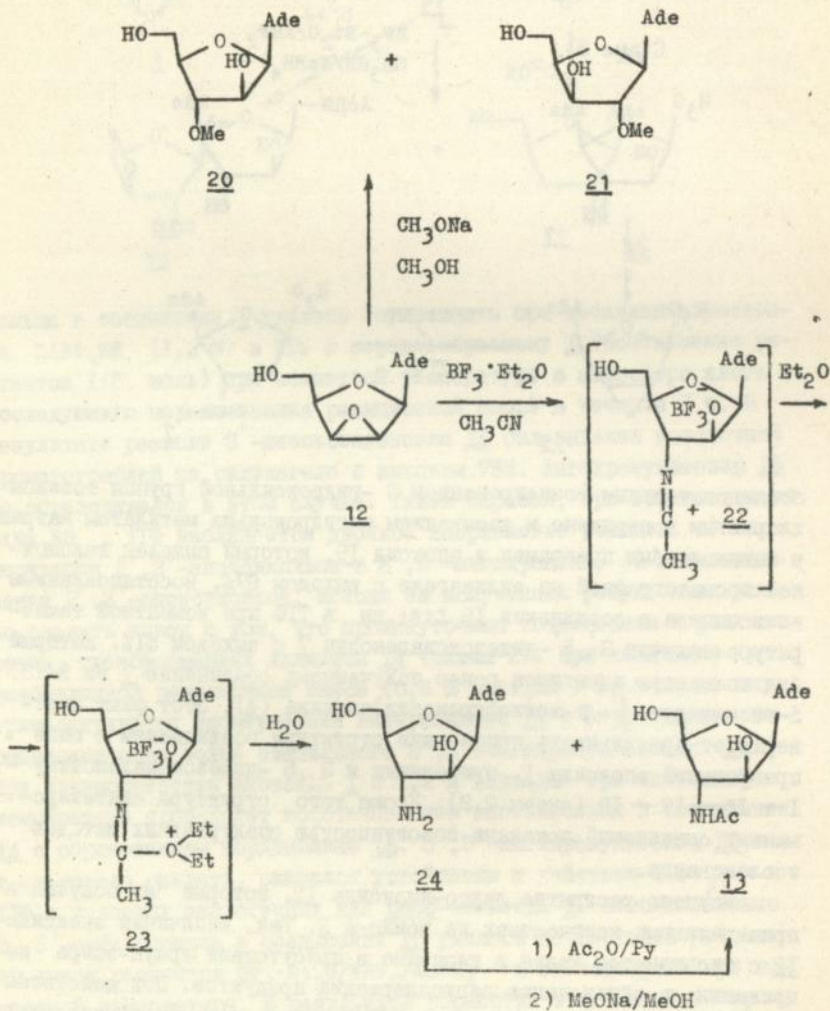
5'-ацетиамидное производное ксило-А 18 с выходами 40% и 21%, соответственно (схема 3). Указанное превращение имеет место только при использовании дифторида калия, который выступает, по-видимому, в качестве кислотного катализатора. 5'-Дезоксиинуклесид 17



последовательным тозилированием 3'-гидроксильной группы тозиллом хлористым в пиридине и замыканием ангидрокольца метилатом натрия в метаноле был превращен в эпексид 19, который выделен колоночной хроматографией на силикагеле с выходом 67%. Восстановлением эпексидцикла в соединении 19 LiEt_3BH в ТГФ при комнатной температуре получен 3',5'-дидеоксиаденозин 7 с выходом 61%, который был полностью идентичен ранее полученному соединению 7 из 9-(3,5-тиоангидро-β-D-ксилофуранозил)аденина (4). Этот факт подтверждает правильность приписания структуры соединениям в цепи превращений эпексида 1, приводящих к 3',5'-дидеоксиаденозину - $1 \rightarrow 15 \rightarrow 17 \rightarrow 19$ (схемы 2,3). Кроме того структура синтезированных соединений доказана совокупностью спектральных методов исследования.

Изучено раскрытие диксо-эпексида 12, который был получен в препаративных количествах из ксило-А 2. Так, кипячение эпексида 12 с тиоцианатом калия в диоксане в присутствии краун-эфира не приводило к образованию серусодержащих продуктов. Под действием метилата натрия в метаноле при 100°C наблюдалось раскрытие диксо-эпексида 12 с образованием смеси Оме-производных ксило-А и

Схема 4



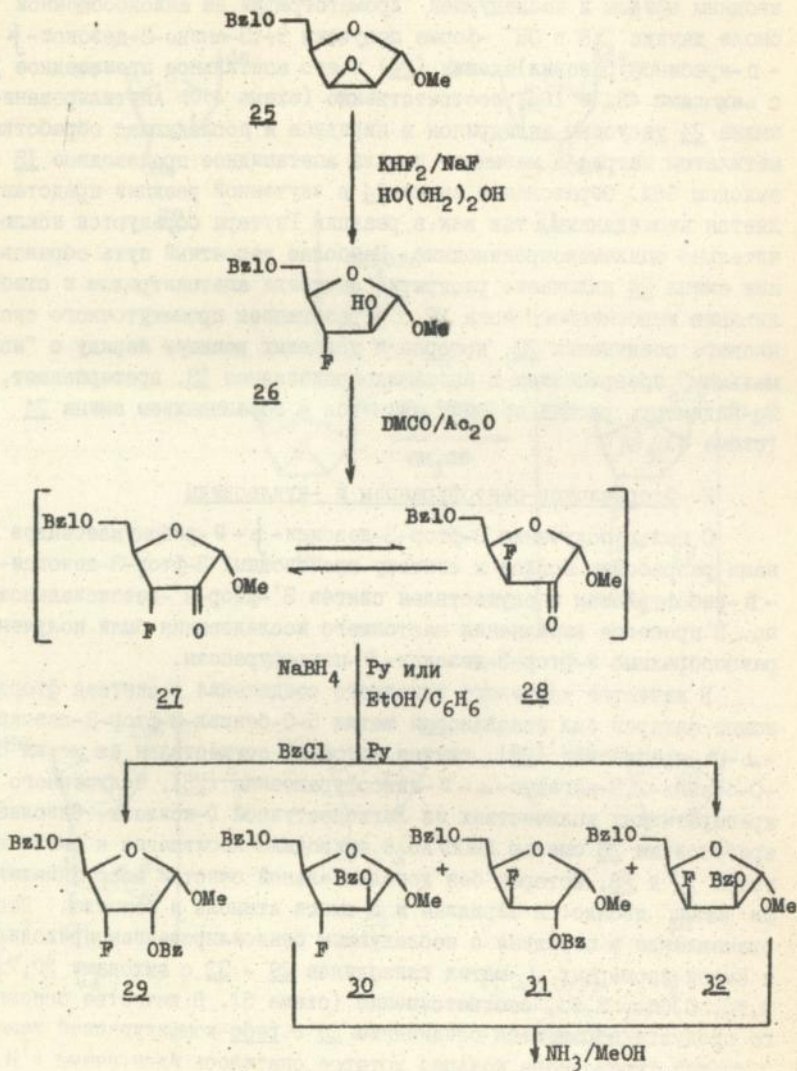
ара-А 21 и 20 в соотношении $\sim 1:6$.

Раскрытие липсо-эпоксида 12 в присутствии эфирата WF_3 протекает в мягких условиях. Так, при обработке эпоксида 12 эфиратом трехфтористого бора в ацетонитриле, высадении продуктов безводным эфиром и последующей хроматографии на анионообменной смоле дауэкс Ix8 в OH^- -форме получены 9-(3-амино-3-дезоксис- β -D-арабинофуранозил)аденин (24) и его ацетильное производное 13 с выходами 43% и 16%, соответственно (схема 4). Ацетилирование амина 24 уксусным ангидридом в пиридине и последующая обработка метилатом натрия в метаноле давали ацетамидное производное 13 с выходом 66%. Образование амина 24 в изученной реакции представляется неожиданным, так как в реакции Риттера образуются исключительно ациламинопроизводные. Наиболее вероятный путь образования амина 24 включает: раскрытие эпоксида ацетонитрилом и стабилизацию карбониевого иона 22 с образованием промежуточного оксониевого соединения 23, которое в условиях реакции наряду с "нормальным" превращением в ацетамидопроизводное 13, претерпевает, по-видимому, распад по типу енаминов с образованием амина 24 (схема 4).

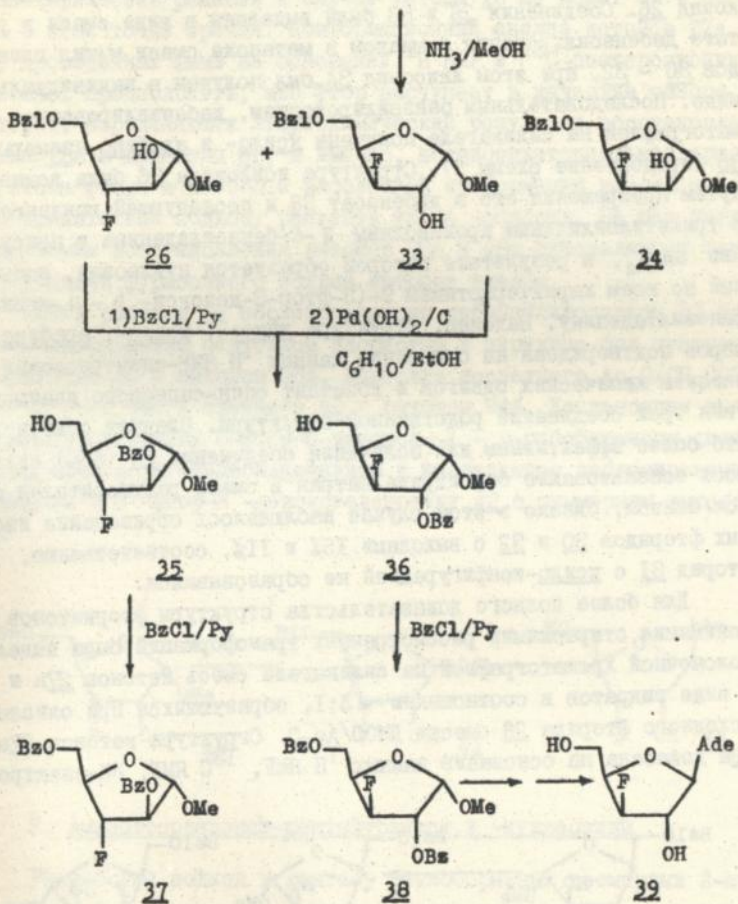
2. Фтордезоксипентофуранозы и -нуклеозиды

С целью получения 3-фтор-3-дезоксис- β -D-рибонуклеозидов нами разработан подход к синтезу производных 3-фтор-3-дезоксис- β -D-рибофуранозы и осуществлен синтез 3'-фтор-3'-дезоксаденозина. В процессе выполнения настоящего исследования были получены разнообразные 3-фтор-3-дезоксис-D-пентофуранозы.

В качестве ключевого исходного соединения в синтезе фтордезоксисахаров был использован метил 5-O-бензил-3-фтор-3-дезоксис- α -D-арабинозид (26), синтез которого осуществлен из метил 5-O-бензил-2,3-ангидро- α -D-липсофуранозид (25), полученного в препаративных количествах из легкодоступной D-ксилозы. Окисление арабинозида 26 смесью ДМСО/ As_2O_3 приводило неожиданно к смеси кетонов 27 и 28, которые без дополнительной очистки восстанавливали NaNH_4 двойко: в пиридине и в смеси этанола и бензола. Восстановление в пиридине с последующим бензоилированием приводило к смеси изомерных α -метил гликозидов 29 - 32 с выходами 20,7%, 3,9%, 0,64%, 3,6%, соответственно (схема 5). В качестве основного продукта образуется соединение 29 с рибо-конфигурацией заместителя в пентозном кольце, которое оказалось идентичным (^1H

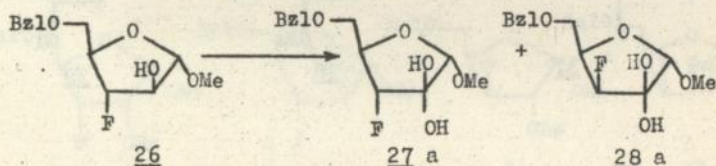


Продолжение схемы 5



ЯМР, ТСХ) рибозиду, полученному из гликозида 26 тозилированием С-2 гидроксильной группы и последующим нуклеофильным замещением тозилокси-группы действием бензоата натрия в диметилсульфоксиде. Структура соединения 30 доказана его превращением в исходный гликозид 26. Соединения 26 и 33 были выделены в виде смеси в результате дебензоилирования аммиаком в метаноле смеси метил гликозидов 30 - 32, при этом ликсозид 34 был получен в индивидуальном виде. Последовательным бензоилированием, дебензилированием и хроматографией на силикагеле получены ксило- и арабино-изомеры 35 и 36 (продолжение схемы 5). Структура ксилозида 36 была доказана путем превращения его в дибензоат 38 и последующей конденсацией с триметилсилильным производным N-6-бензоиладенина в присутствии SnCl_4 , в результате которой образуется нуклеозид, идентичный по всем характеристикам 9-(3-фтор-3-дезоксидеокси- β -D-ксилофуранозил)аденину. Наконец, структура ликсо-, ксило-, арабино-изомеров подтверждена на основании данных ^1H ЯМР-спектроскопии сравнением химических сдвигов и констант спин-спинового взаимодействия трех соединений родственной структуры. Следует отметить, что более эффективным для получения соединения 29 (55%) оказалось использование боргидрида натрия в смеси растворителей этанол/бензол, однако в этом случае наблюдалось образование изомерных фторидов 30 и 32 с выходами 15% и 11%, соответственно, а фторид 31 с ксило-конфигурацией не образовывался.

Для более полного доказательства структуры фторкетонов и понимания стереохимии рассмотренных трансформаций была выделена колоночной хроматографией на силикагеле смесь кетонов 27а и 28а в виде гидратов в соотношении $\sim 5:1$, образующихся при окислении исходного фторида 26 смесью ДМСО/ As_2O_3 . Структура кетонов 27а и 28а доказана на основании данных ^1H ЯМР, ^{13}C ЯМР, ИК-спектроско-

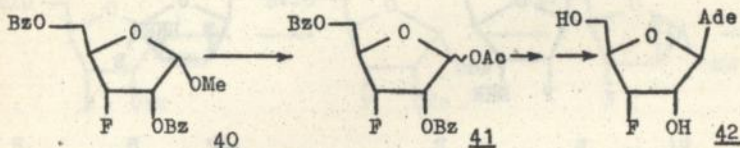


пии. Образование смеси изомерных кетонов 27 и 28 на стадии окисления гликозида 26 является неожиданным фактом. Эпимеризация при С-3 атоме, по-видимому, протекает в процессе окисления че-

рез енолизацию рибо-кетона 27.

Стерический и электронный факторы α -метоксильной группы играют решающую роль в стереохимии восстановления кетона 27, стереоспецифичность реакции в случае кетона 28 не может быть объяснена с этой точки зрения. Конформационный анализ кетонов 27а и 28а, проведенный нами на основании ^1H ЯМР и ^{13}C -спектроскопии, позволяет предположить, что фтор выступает в качестве одного из факторов, определяющих стереохимический результат восстановления кетона 28а в ликсозид 32, а именно, псевдоэкваториальная ориентация атома фтора в наиболее заселенной конформации кетона не создает препятствий подходу реагента из α -области. На наш взгляд стереохимия восстановления кетонов 27а и 28а определяется также конформацией фуранозного кольца кетонов в целом.

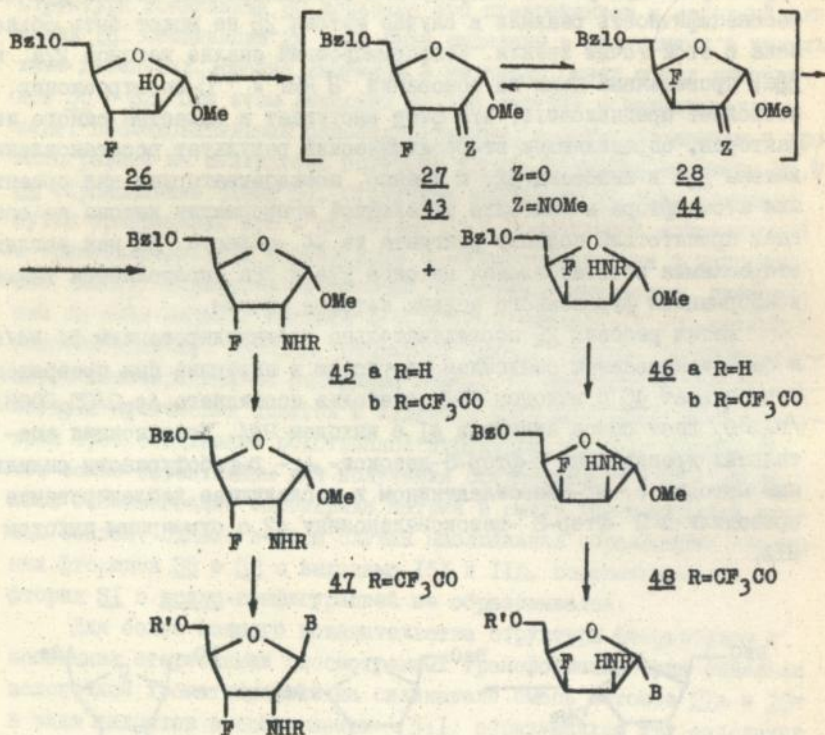
Метил рибозид 29 последовательно дебензилированием 5% Pd/C и бензоилированием бензоилом хлористым в пиридине был превращен в дибензоат 40 с выходом 96%. Ацетоллиз последнего $\text{As}_2\text{O}_3/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{S O}_4$ дает смесь ацетатов 41 с выходом 94%. Конденсация ацетильных производных 3-фтор-3-дезоксидеокси- α -D-рибофуранозы силильным методом с N⁶-бензоиладенином и последующее деблокирование приводили к 3'-фтор-3'-дезоксиаденозину 42 с суммарным выходом 61%.



3. Аминофтордезоксипентофуранозы и нуклеозиды

Разработан подход к синтезу разнообразных изомерных 2-амино-3-фтор-2,3-дидезокси-D-пентофураноз и нуклеозидов на их основе.

Обработка смеси промежуточных кетонов 27 и 28 $\text{NH}_2\text{OMe} \cdot \text{HCl}$ в пиридине давала соответствующие оксимы 43 и 44, которые без дополнительной очистки действием LiAlH_4 в THF были превращены в амины 45а и 46а, соответственно. В результате обработки смеси 45а и 46а CF_3COset в хроматографии на силикагеле получены индивидуальные метил 5-0-бензил-2-трифторацетамидо-3-фтор-2,3-ди-



	R'	B	R
49	Bz	N ⁶ -Bz-Ade	CF ₃ CO
50	Bz	N ⁴ -Bz-Cyt	CF ₃ CO
51	Bz	Thy	CF ₃ CO
52	Bz	N ² -Ac-Gua	CF ₃ CO
53	Bz	N ² -Ac-Gua-N ⁷	CF ₃ CO
54	H	Ade	H
55	H	Cyt	H
56	H	Thy	H
57	H	Gua	H
58	H	Gua-N ⁷	H

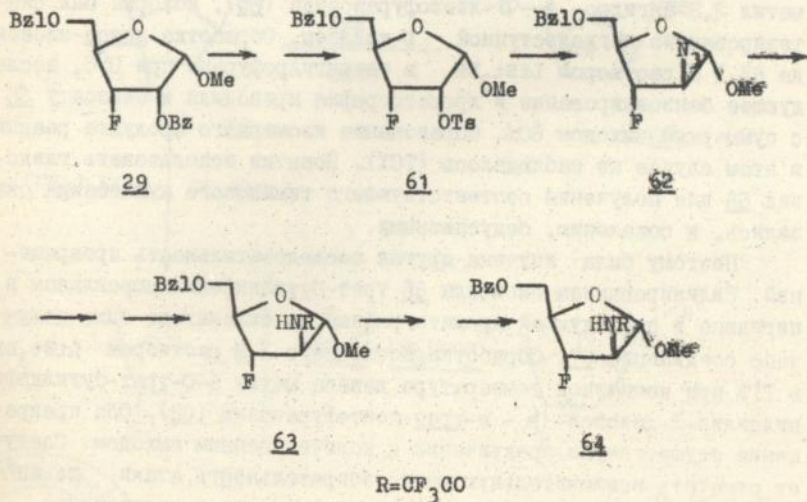
	R'	B	R
59	Bz	N ⁶ -Bz-Ade	CF ₃ CO
60	H	Ade	H

дезоксид- α -D-рибофуранозид (45б) и его ликсо-изомер 46б с суммарными выходами 25% и 5%, соответственно (схема 6). Дебензилированием соединений 45б и 46б с использованием 20% $\text{Pd}(\text{OH})_2/\text{C}$ в этаноле в присутствии циклогексена и последующим бензоилированием бензойлом хлористым в пиридине получены с высокими выходами бензоаты 47 и 48, соответственно.

Для подтверждения структуры соединений 45б и 46б был осуществлен синтез арабинозидов 63 и 64 (схема 7). Метилрибозид 29 последовательно дебензоилированием аммиаком в метаноле и тозилацией тозиллом хлористым в пиридине превращен в тозилат 61 с суммарным выходом 84%. Обработка последнего NaN_3 в ДМСО при 190°C давала азид 62 с выходом 76%, действием последовательно трифенилфосфина в пиридине, водного аммиака и S-этилтрифтористого ацетата был получен арабинозид 63 с суммарным выходом 61%, исходя из азиды 62. Синтез бензоата 64 осуществлен аналогично описанному выше для соединений 47 и 48. Структура фтораминасахаров 47, 48, 64 доказана на основании данных ^1H ЯМР- и ИК-спектроскопии.

Синтезированные 2-амино-3-фтор-2,3-дидезокси-D-пентофуранозиды с рибо- и ликсо-конфигурацией 47 и 48 были использованы

Схема 7



для синтеза соответствующих нуклеозидов. Конденсацией метилгликозида 47 силильным методом с природными гетероциклическими основаниями были получены блокированные β -нуклеозиды 49 - 53. Интересно отметить, что во всех случаях не наблюдается образования α -аномеров нуклеозидов.

Обработка блокированных нуклеозидов 49 - 53 насыщенным раствором аммиака в метаноле приводила к 2'-амино-3'-фтор-2',3'-дидезоксинуклеозидам 54 - 58.

Исходя из метил 5-0-бензил-2-трифторацетиамидо-3-фтор-2,3-дидезокси- α -D-ликофуранозида (48) получен адениновый лико-нуклеозид 59, деблокирование которого давало α -нуклеозид 60.

Структура 2'-амино-3'-фтор-2',3'-дидезокси-рибонуклеозидов была доказана на основании данных ^1H ЯМР- и КД-спектроскопии, а также встречным синтезом из 2'-азидо-3'-фтор-2',3'-дидезокси- β -D-рибофуранозидов аденина, цитозина, тимина, путем восстановления азидогруппы при С-2' известными методами.

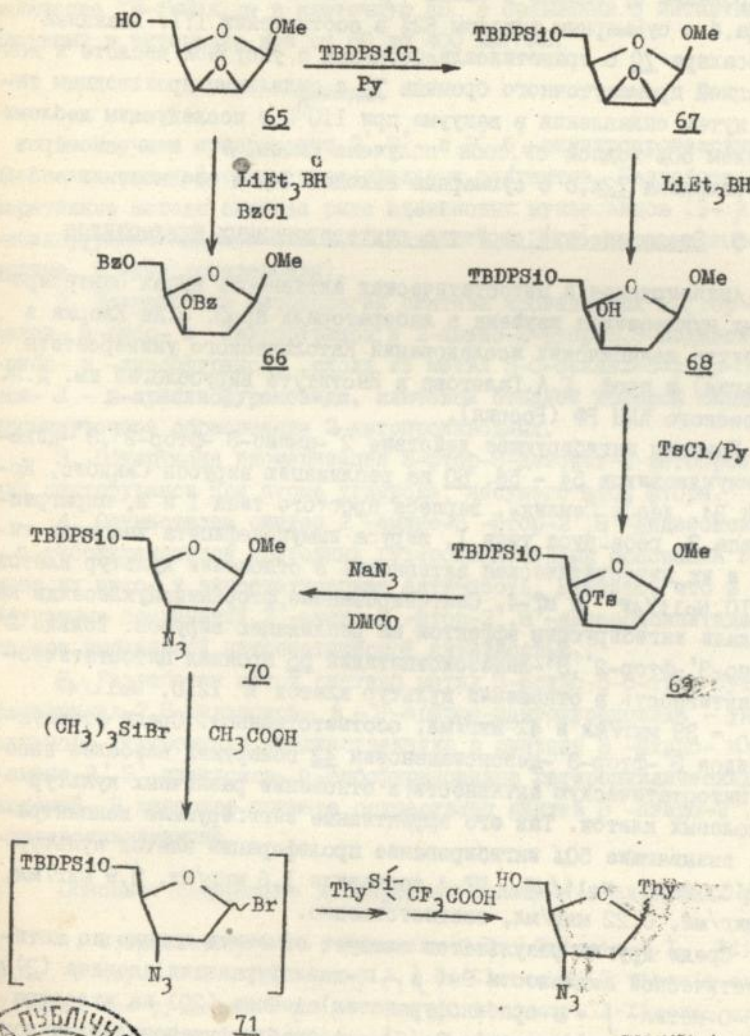
4. Синтез 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина (АЗТ)

Исследована возможность использования 2,3-ангидропроизводных сахаров в синтезе гликозилирующих агентов для получения 3'-замещенных 2',3'-дидезоксинуклеозидов.

Первоначально нами было изучено восстановление эпокси-цикла метил 2,3-ангидро- β -D-ликофуранозида (65), который был синтезирован из легкодоступной D-ксилозы. Обработка лико-эпоксида 65 I M раствором LiEt_3Vn в тетрагидрофуране при 0°C , последующее бензоилирование и хроматография приводили к бензоату 66 с суммарным выходом 60%. Образование изомерного продукта реакции в этом случае не наблюдалось (ТСХ). Попытки использовать гликозид 66 для получения соответствующего тиминового нуклеозида оказались, к сожалению, безуспешными.

Поэтому была изучена другая последовательность превращений. Силилированием эпоксида 65 трет-бутилдифенилхлорсиланом в пиридине и последующей хроматографией на силикагеле было получено соединение 67. Обработка последнего I M раствором LiEt_3Vn в THF при комнатной температуре давала метил 5-0-трет-бутилдифенилсил-2-дезокси- β -D-трео-пентофуранозид (68). Оба превращения осуществлены практически с количественным выходом. Следует отметить исключительную региоизбирательность атаки Et_3Vn атома на С2 атом эпоксида. Последовательное тозиллирование





72. 2. 1. 0. 1.
b. 4. 2. 0.



трео-соединения 68 тозиллом хлористым в пиридине и обработка тозилат 69 азидом натрия в ДМСО давали азидопроизводное 70 с суммарным выходом 70%. Конденсация азида 70 с силильным производным тимина в присутствии TMS-Tf₁ в ацетонитриле и последующее деблокирование приводили к смеси β- и α-аномеров азидотимидина 72a,б с суммарным выходом 62% в соотношении 1:1. Реакцией азидосахара 70 с триметилсилилбромидом в уксусной кислоте и конденсацией промежуточного бромиды 71 с силильным производным тимина путем сплавления в вакууме при 110°C и последующим деблокированием 50% водной CF₃COOH получена смесь β- и α-аномеров азидотимидина 72a,б с суммарным выходом 24% в соотношении ~3:2.

5. Биологические свойства синтезированных нуклеозидов

Антивирусная и цитостатическая активность вновь синтезированных нуклеозидов изучена в лабораториях проф. Э.Де Клерка в Институте медицинских исследований Католического университета (Бельгия) и проф. Г.А.Галегова в Институте вирусологии им. Д.И. Ивановского АМН РФ (Россия).

Изучены ингибирующее действие 2'-амино-3'-фтор-2',3'-дидезоксинуклеозидов 54 - 58, 60 на репликацию вирусов Синдбис, Коксаля В4, лесов Семплики, герпеса простого типа I и 2, парагриппа типа 3, реовируса типа I, вируса иммунодефицита человека типа I и их цитостатическая активность в отношении культур клеток L 1210, Molt/4F и МТ-4. Синтезированные фтораминонуклеозиды не обладали ингибирующим эффектом на репликацию вирусов. Только 2'-амино-3'-фтор-2',3'-дидезоксицитидин 55 проявил цитостатическую активность в отношении культур клеток L 1210, Molt/4F (EC₅₀ = 39 мкг/мл и 42 мкг/мл, соответственно). Среди фторнуклеозидов 3'-фтор-3'-дезоксадеозин 42 обнаружил наиболее высокую цитостатическую активность в отношении различных культур опухолевых клеток. Так его эффективные ингибирующие концентрации, вызывающие 50% ингибирование пролиферации клеток культур L 1210, Raji, Molt/4F, МТ-4 составили 1,6 мкг/мл, 3,9 мкг/мл, 28 мкг/мл, 0,22 мкг/мл, соответственно.

Среди других результатов следует отметить данные по антигерпетической активности 9-(β-D-ксилофуранозил)аденина (2) и 9-(3-O-метил-β-D-арабинофуранозил)аденина (20) на культуре клеток vero в сравнении с 9-(β-D-арабинофуранозил)аденином. IC₅₀ ксило-А в отношении ВПГ-I штамм Z₂(ТК+) составляет 0,185

мкг/мл, а ара-А - 4,7 мкг/мл. Найдено, что химиотерапевтический индекс (ХТИ) ксило-А равен 22,4, а ХТИ ара-А - 3,2. Ксило-А обладает значительно большей химиотерапевтической активностью, чем ара-А, а 3'-О-СН₃-ара-А не обладает способностью ингибировать репродукцию вируса герпеса типа I, однако стимулирует в 2 раза включение ³H-тимидина в клеточную ДНК в сравнении с интактными клетками в интервале доз от 50 до 400 мкг/мл.

Выводы

1. Изучены превращения 2',3'- и 3',5'-ангидропроизводных аденозина под действием нуклеофильных реагентов. Разработаны препаративные методы синтеза ряда адениновых нуклеозидов (9-β-D-ксилофуранозиладенин и его 5'-дезокс- и 3',5'-дидезоксипроизводные, 3'-деоксиаденозин).

2. Разработана методология синтеза производных 3-гидрокси-3-дезоксид-рибо- и -ликтофураноз и 2-амино-3-фтор-2,3-дидезокси-D-рибо- и -ликтофураноз, исходя из метил 5-О-бензил-3-фтор-3-дезоксид-β-D-арабинофуранозида, ключевой стадией которой является промежуточное образование 2-кетопроизводных.

3. Обнаружена изомеризация 3-фтор-3-дезоксид-2-кетопроизводных пентофураноз при атоме углерода, несущего атом фтора.

4. Осуществлен синтез 2'-амино-3'-фтор-2',3'-дидезокси-β-D-рибофуранозидов природных гетероциклических оснований и изучена их цито- и виростатическая активность. Найдено, что в ряду изученных соединений 2'-амино-3'-фтор-2',3'-дидезокситимидин обладает выраженной цитостатической активностью.

5. Разработан метод синтеза метил 8-азидо-5-О-трет-бутилдифенилсиллил-2,3-дидезокси-β-D-эритропентофуранозида - универсального углеводного предшественника в синтезе 3'-азидо- и 3'-амино-2',3'-дидезокси-D-рибофуранозидов гетероциклических оснований. В качестве примера осуществлен синтез 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина.

Основное содержание диссертации изложено в следующих разделах:

1. Mikhailopulo I.A., Pospelko N.E., Pricota T.I., Sivets G.G., Kvasuyuk E.I., Balzarini J., De Clercq E. Synthesis and antiviral and cytostatic properties of 3'-deoxy-3'-fluoro- and 2'-azido-3'-fluoro-2',3'-dideoxy-D-ribofuranosides of natural heterocyclic bases // J. Med. Chem. - 1991. - Vol. 34, 4, 7. - P.2195-

-2202.

2. Mikhailopulo I.A., Sivets G.G., Pricota T.I., Pooreiko N.E., Balzarini J., De Clercq E. Synthesis and biological properties of 2-amino-3-fluoro-2,3-dideoxy-D-pentofuranosides of natural heterocyclic bases // *Nucleosides & Nucleotides*. - 1991. - Vol. 10, N 8. - P.1743-1757.

3. Сивец Г.Г., Квасюк Е.И., Михайлопуло И.А. Превращения 2',3'-эпоксипроизводных аденозина под действием цианат- и тиоцианат-анионов // *Ж. Орг. Хим.* - 1989. - Т.25, № 1. - С.189-195.

4. Сивец Г.Г. Трансформации 9-(2,3-ангидро-β-D-рибофуранозил)аденина под действием нуклеофильных реагентов // Тез. докл. 8-ой конф. молодых ученых "Синтез и исследование биологически активных соединений": Рига, 1984. - С.71.

5. Сивец Г.Г. Раскрытие ангидрокольца 9-(3,5-ангидро-β-D-ксилофуранозил)аденина // Тез. докл. VIII Всесоюзного симп. по целенапр. изысканию лек. веществ. Компоненты нуклеиновых кислот: Рига, 1989. - С.39-40.

6. Сивец Г.Г. Синтез и раскрытие ангидрокольца 2,3-рибо- и ликсо-эпоксидов аденозина // Тез. докл. VII конф. мол. уч. по синтез. и природн. физиол. акт. соед., посв. 80-летию акад. АН Арм.ССР А.Л.Мнджояна: Ереван, 1984. - С.85.

7. Mikhailopulo I.A., Pooreiko N.E., Sivets G.G., Pricota T.I. Synthesis of some 3-deoxy-3-fluoro- and 2-amino-2,3-dideoxy-3-fluoro-D-ribofuranose and lyxose derivatives // *Eurocarb V, V Europ. Symp. on Carbohydrates: Prague, 1989.* - P.93.

8. Mikhailopulo I.A., Sivets G.G., Kvasyuk E.I. Oxirane ring opening of 9-(2,3-anhydro-β-D-ribofuranosyl)adenine by cyanate and thiocyanate anions: participation of 5'-OH group // *Synthesis '86 Moscow, VI International conference on organic synthesis: Moscow, 1986.* - P.170.

9. Способ получения 9-β-D-ксилофуранозиладенина. А.С. СССР № III9336 / Михайлопуло И.А., Квасюк Е.И., Сивец Г.Г., Решиков В.П., Фертукова Н.М. // *Изобретения. Открытия.* - 1986. - № 48.

10. Гидрат метил 5-О-бензил-3-дезоксиз-3-фтор-α-D-рибопентофуранозид-2-улозы в качестве промежуточного продукта в синтезе метил 5-О-бензил-2-О-бензоил-3-дезоксиз-3-фтор-α-D-рибопентофуранозид. А.С. СССР № 1675302 / Сивец Г.Г., Пупейко Н.Е., Прикота Т.И., Квасюк Е.И., Михайлопуло И.А. // *Изобрете-*

ния. Открытия. - 1991. - № 33.

11. Метил 2-О-бензоил-3-фтор-3-дезоксид-рибофуранозиды в качестве промежуточных продуктов в синтезе биологически активных 3'-фтор-3'-дезоксирибонуклеозидов. А.С. СССР № 1521738 / Пупейко Н.Е., Прикота Т.И., Сивец Г.Г., Квасюк Е.И., Михайлопуло И.А. // Изобретения. Открытия. - 1989. - № 42.

12. 1-О-Ацетил-2,5-ди-О-бензоил-3-фтор-3-дезоксид-Д-рибофураноза в качестве промежуточного продукта в синтезе биологически активных 3'-фтор-3'-дезоксирибонуклеозидов. А.С. СССР № 1507764 / Пупейко Н.Е., Прикота Т.И., Сивец Г.Г., Квасюк Е.И., Михайлопуло И.А. // Изобретения. Открытия. - 1989. - № 34.

13. 3'-фтор-3'-дезоксирибонуклеозиды, проявляющие цитостатическую активность. А.С. СССР № 1500645 / Пупейко Н.Е., Прикота Т.И., Сивец Г.Г., Квасюк Е.И., Михайлопуло И.А., Решиков В.П., Фертукова Н.М. // Открытия. Изобретения. - 1989. - № 30.

Подписано в печать 21.05.93.

Бумага типографская № 1.

Усл.печ.л.1,5

Тираж 100.

Зак.103

Формат 60x84,1/16.

Печать офсетная.

Учет.изд.л.1,39

Бесплатно.

Отпечатано на ротапринтере ЦНБ АН РБ. 220601, Минск,
ул. Сурганова, 15.

439146

AB 36.499