



УДК 547.857.7'455.5'118.057

СИНТЕЗ И ХИМИЧЕСКИЕ ПРЕВРАЩЕНИЯ
1-β-D-АРАБИНОФУРАНОЗИДОВ 3,4,6-ТРИЗАМЕЩЕННЫХ
ПИРАЗОЛО [3,4-d]ПИРИМИДИНОВ

Гараева Л. Д., Ярцева И. В., Преображенская М. Н.*

Всесоюзный онкологический научный центр
Академии медицинских наук СССР, Москва;

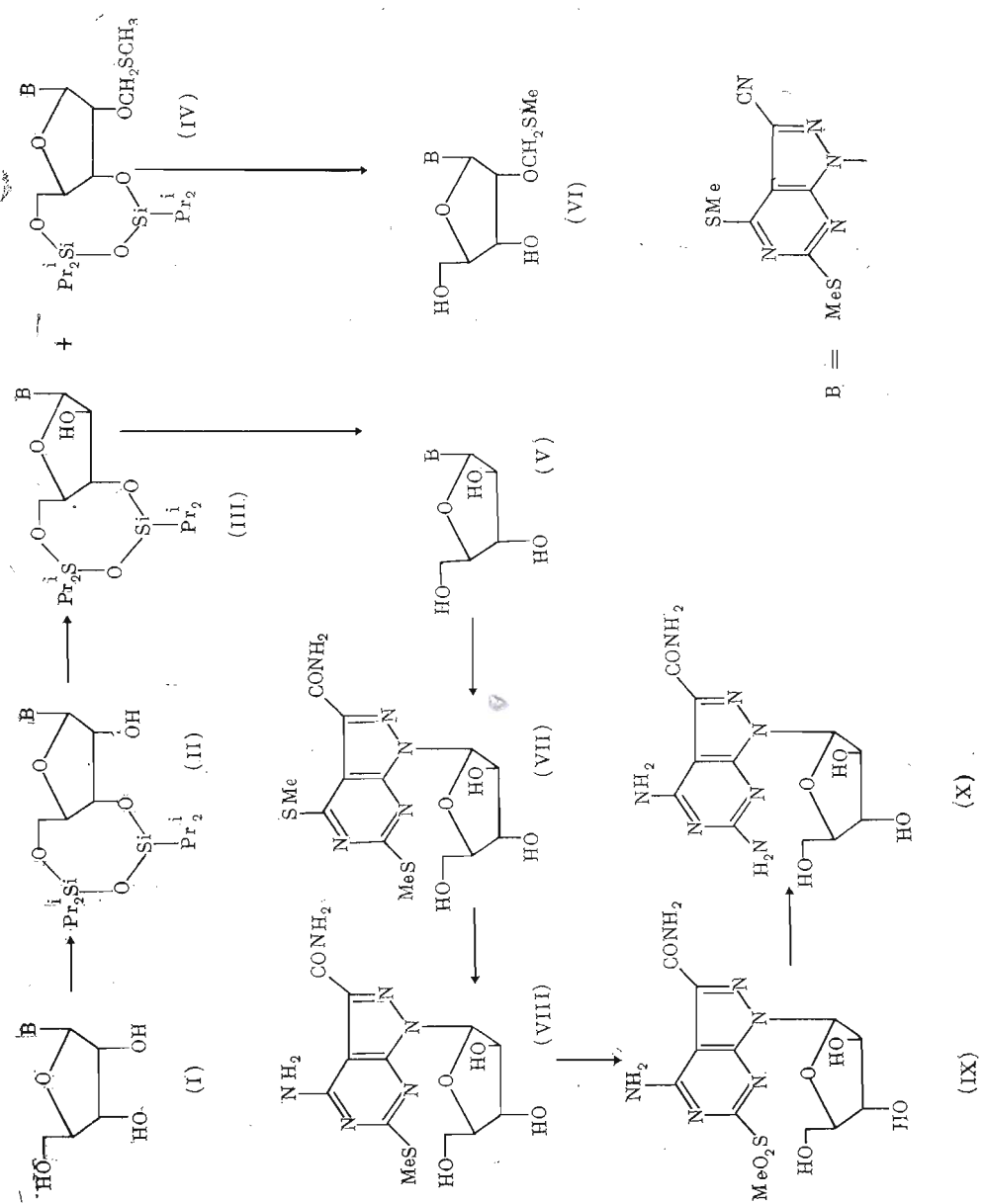
* Всесоюзный научно-исследовательский институт
по изысканию новых антибиотиков Академии медицинских наук СССР, Москва

1-β-D-Арабинофуранозид 3-циано-4,6-диметилмеркаптопиразоло[3,4-d]пиримидина получен из соответствующего рибозида при окислении его 3',5'-O-тетраизопропилдисилоксантильного производного DMSO и укусным ангидридом с последующим восстановлением боргидридом натрия (обращение конфигурации при C2'). Из этого соединения модификацией гетероциклической части молекулы синтезирован 1-(β-D-арабинофуранозил)-3-карбамоил-4,6-диаминопиразоло[3,4-d]пиримидин. Для замещения неракционноспособной 6-метилмеркаптогруппы ее предварительно превращали в метилсульфонильную группу окислением *m*-хлорнадбензойной кислотой.

В последние десятилетия наблюдается значительный интерес к изучению нуклеозидов, модифицированных в углеводной части молекулы, как потенциальных противоопухолевых и противовирусных препаратов. Противоопухолевой и/или противовирусной активностью, в частности, обладают 9-β-D-арабино-, 9-β-D-ликто- и 9-β-D-ксилофуранозиладенин [1-3]. Примером аналогов нуклеозидов, модифицированных как в углеводной, так и в гетероциклической части молекулы, проявляющих подобные биологические свойства, может служить 9-β-D-арабинофуранозил-6-метилмеркаптоуридин [3]. В настоящей работе мы осуществили превращение рибозида 3-циано-4,6-диметилмеркаптопиразоло[3,4-d]пиримидина (I) в соответствующий арабинозид и последующую трансформацию гетероциклической части молекулы с целью сравнения биологических свойств полученных соединений со свойствами аналогичных рибозифуранозидов, синтезированных нами ранее [4] (схема).

Для модификации углеводного остатка соединения (I) нами проведено обращение конфигурации при C2' в соответствующем 3',5'-O-защитном производном (II), которое было получено взаимодействием нуклеозида (I) с 1,1,3,3-тетраизопропил-1,3-дихлордисилоксаном в пиридине с выходом 88% [5]. Конфигурацию обрашали окислением рибозида (II) DMSO и укусным ангидридом с последующим восстановлением промежуточно образующегося 2'-кетопроизводного боргидридом натрия. Основным продуктом реакции — тетраизопропилдисилоксантильное производное арабинозида (III) — выделен с выходом 58%. В качестве побочного продукта получено 2'-O-метилмеркаптометильное производное рибозида (IV) (18%). После удаления тетраизопропилдисилоксантильной защитной группы действием фтористого тетра-*n*-бутиламмония из соединения (III) образовался арабинозид (V), а из соединения (IV) — рибозид (VI).

В отличие от рибозида (I), который легко превращается в соответствующее 3-карбамоильное производное под действием водного раствора аммиака, содержащего 3% раствор перекиси водорода [4], для превращения арабинозида (V) требуются более жесткие условия реакции. Трансформацию 3-цианогруппы нуклеозида (V) в 3-карбамоильную осуществляли обработкой 25% водным раствором KOH, содержащим 3% раствор перекиси водорода. Соединение (VII) получено с выходом 54%, при этом выделено также 11% исходного вещества.



Свойства синтезированных соединений

Соединение	Т.пл., °С	Найдено, %				Брутто-формула	Вычислено, %				λ_{max} , нм (lg ϵ)	Выход, %	R_f (система)
		C	H	N	S		C	H	N	S			
(II)	Сироп	48,62	6,81	11,51	10,48	$C_{23}H_{14}N_5O_5S_2Si_2$	49,07	6,75	11,45	10,48	252 (4,45) 292 (4,16) 315 (4,01)	88	0,91 (A)
(III)	143–144	49,73	6,73	11,55	10,57	$C_{23}H_{14}N_5O_5S_2Si_2$	49,07	6,75	11,45	10,48	252 (4,44) 292 (4,16) 315 (4,03)	58	0,71 (A)
(V)	208–209	42,28	4,12	19,34	18,07	$C_{13}H_{13}N_5O_4S_2$	42,27	4,09	18,96	17,36	253 (4,41) 292 (4,16) 315 (4,04)	93	0,66 (B)
(VII)	203–205	39,66	5,24	16,89	15,08	$C_{13}H_{17}N_5O_3S_2 \cdot CH_3OH$	40,09	5,05	16,70	15,29	251 (4,40) 291 (4,16) 310 (4,04)	54	0,33 (B)
(VIII)	262–264 (разл.)	40,13	4,56	24,23	8,49	$C_{12}H_{16}N_6O_5S$	40,45	4,53	23,58	9,00	250 (4,43) 280 (3,98) 290 (3,93) 210 (4,3) 248 (4,0) 293 (3,9)	82	0,23 (B)
(IX)	183–185 (разл.)											81	0,17 (B)
(X)	223–225	40,02	4,67	29,69		$C_{11}H_{13}N_7O_5$	40,62	4,65	30,14		232 (4,46) пл. 255 (3,89) 297 (3,86)	83	0,05 (B)

Данные спектров ¹H-ЯМР синтезированных соединений

Соединение	Растворитель	Химический сдвиг, δ, м.д.										KCCB, Гц				
		SCl ₃	NH ₂	H1'	H2'	H3'	H4'	H5' a, H5' b	1'2'	2'3'	3'4'	4'5' a	4'5' b	5' a 5' b		
(II)	CDCl ₃	2,62 2,71		6,51	4,48	5,40	4,42	4,02-3,94	0,0	5,2	7,7					
(III)	CDCl ₃	2,62 2,72		6,60	4,70	4,96	3,86	4,01	6,7	8,2	7,1					
(IV)	CDCl ₃	2,16 2,61 2,71		6,42	4,62	5,09	4,12	4,04	0,0	4,4	8,7	2,6	2,6	15,4		
(V)	DMSO-d ₆	2,63 2,72		6,51	4,40	4,23	3,82	3,71	6,6	8,2	8,2	3,1	7,5	11,9		
(VI)	DMSO-d ₆	1,93 2,63 2,72		6,31	4,85	4,40	3,98	3,61	5,0	5,0	5,0	5,1	6,5	12,0		
(VII)	DMSO-d ₆	2,54 2,62	7,63; 7,74	6,46	4,41	4,48	3,74	3,68	6,6	8,2	7,9	3,1	7,2	12,2		
(VIII)	DMSO-d ₆	3,24	7,91; 7,95; 7,91; 8,77	6,36	4,35	4,48	3,71	3,67-3,56	6,7	8,2	8,0					
(IX)	C ₆ D ₆ N	3,47	8,36; 9,28; 9,80; 9,96	7,13	5,21	5,59	4,65	4,44	6,7	7,9	7,9	2,7	6,4	12,0		
(X)	C ₆ D ₆ N		8,09; 8,33; 8,85; 9,45	7,05	5,16	5,55	4,60	4,40	6,4	7,8	7,8	3,1	5,1	11,8		

Аминирование нуклеозида (VII) насыщенным раствором аммиака в метаноле при 80°С приводило к моноаминопроизводному, которому была приписана структура (VIII), так как ранее было показано, что при аммонолизе рибозида 4,6-диметилмеркаптопиразоло[3,4-*d*]пиримидина происходит замещение 4-метилмеркаптогруппы [6].

Окислением 6-метилмеркаптогруппы до метилсульфонильной группы *m*-хлорнадбензойной кислотой в метаноле при комнатной температуре было получено метилсульфонильное производное (IX) [4], выход которого составил 81%. Аминирование соединения (IX) жидким аммиаком при комнатной температуре привело к 1-β-*D*-арабинофуранозиду 3-карбамоил-4,6-диаминопиразоло[3,4-*d*]пиримидина (X) с выходом 83%.

Синтезированные соединения охарактеризованы данными элементного анализа и спектральными методами. Их структура как 1-β-нуклеозидов пиразоло[3,4-*d*]пиримидина следует из схемы взаимных превращений. Свойства полученных соединений приведены в табл. 1, данные спектров ¹H-ЯМР — в табл. 2.

В спектрах ¹H-ЯМР синтезированных соединений наблюдается характерное изменение констант спин-спинового взаимодействия углеводов протонов при включении рибофуранозного остатка в бициклическую систему при введении 1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксановой защитной группы (см. табл. 2 и [4]). Ранее Робинс и Маккосс [7] установили, что в ¹H-ЯМР-спектрах ряда 3',5'-циклических монофосфатов β-рибофуранозидов (*транс*-ориентация протонов Н1' и Н2') величина константы спин-спинового взаимодействия аномерного протона $J_{1',2'} \leq 1$ Гц, а в спектрах цикломонофосфатов α-рибо- и β-арабинофуранозидов (*цис*-ориентация протонов Н1' и Н2') $J_{1',2'} \geq 3,5$ Гц. Значение $J_{1',2'}$ 3',5'-цикломонофосфатов нуклеозидов было предложено использовать как критерий для определения их аномерной конфигурации [7]. Подобную закономерность мы обнаружили и в случае циклических 3',5'-*O*-тетраизопропилдисилоксандрильных производных нуклеозидов ряда пиразоло[3,4-*d*]пиримидина (табл. 2), где для 1-β-*D*-рибофуранозидов (II), (IV) $J_{1',2'} \approx 0$, а для арабинозида (III) $J_{1',2'} = 6,7$ Гц. Аналогичные значения $J_{1',2'}$ наблюдались нами ранее в спектрах 3',5'-*O*-тетраизопропилдисилоксандрильных производных рибо- и арабинофуранозидов 4-метилмеркаптопиразоло[3,4-*d*]пиримидина [5].

Таким образом, получение 3',5'-*O*-тетраизопропилдисилоксандрильных производных и изучение их спектров ¹H-ЯМР могут быть использованы для определения аномерной конфигурации нуклеозидов.

Изучение цитотоксических свойств синтезированных арабинозидов на культуре клеток карциномы яичника человека СаОv показало, что они менее активны, чем соответствующие рибозиды [4] (СЕ₅₀ ≥ 150 мкг/мл), цитотоксичность лишь одного соединения — 1-(β-*D*-арабинофуранозил)-3-карбамоил-4,6-диметилмеркаптопиразоло[3,4-*d*]пиримидина (VII) (СЕ₅₀ 45 мкг/мл) сопоставима с активностью соответствующего рибозида и 4,6-диаминопроизводного.

Авторы выражают признательность Э. А. Кашутиной за предоставление 1,3-дихлор-1,1,3,3-тетраизопропилдисилоксана, Я. В. Добрыниной и Т. Г. Николаевой за изучение цитотоксического действия синтезированных соединений.

Экспериментальная часть

Спектры ¹H-ЯМР свимали на спектрометре Bruker WH360 (рабочая частота 360 МГц, внутренний стандарт — тетраметилсилан), УФ-спектры — на спектрометре Cary 219 (Varian) в этаноле. Аналитическую ТСХ проводили на пластинках Silufol UV₂₅₄ (Kavalier, ЧССР), препаративную — на стеклянных пластинках с незакрепленным слоем силикагеля L5/40 (ЧССР) в системах хлороформ — метанол, 100 : 1 (А), хлороформ — этанол, 9 : 1 (Б), хлороформ — метанол, 4 : 1 (В) или на колонках с силикагелем L40/100 (ЧССР). Цитотоксическое действие синтезированных соединений исследовали на культуре клеток рака яичника человека СаОv по методике [8].

1-(3,5-*O*-Тetraизопропилдисилоксандриль-β-*D*-рибофуранозил)-3-циано-4,6-диметилмеркаптопиразоло[3,4-*d*]пиримидин (II). К раствору 7,02 г (19,0 ммоль) соединения (I) в 95 мл безводного пиридина прибавляли 6,5 мл (20,9 ммоль) 1,3-дихлор-

1,1,3,3-тетраизопропилдисулоксана и перемешивали 4 ч при 20°С, после чего растворитель отгоняли в вакууме. Остаток растворяли в хлороформе, раствор последовательно промывали водой, холодной 5% HCl, водой. Раствор сушили Na₂SO₄ и фильтрат упаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке, элюируя хлороформом. Получали 11,86 г (88%) защищенного рибозида (II) в виде бесцветной пены.

1-(3,5-О - Тетраизопропилдисулоксандиил-β-D-арабинофуранозил)-3-циано-4,6-диметилмеркаптопиразоло[3,4-d]пиримидин (III) и *1-(3,5-О-тетраизопропилдисулоксандиил-2-О-метилмеркаптометил-β-D-рибофуранозил)-3-циано - 4,6-диметилмеркаптопиразоло[3,4-d]пиримидин (IV)*. К раствору 0,90 г (3,01 ммоль) соединения (II) в 5,9 мл безводного DMSO приливали 0,74 мл уксусного ангидрида и перемешивали 40 ч при 20°С, затем охлаждали реакционную массу до 0°С, добавляли 7,4 мл абсолютного этанола и трижды по 0,20 г боргидрида натрия. После завершения реакции через 2,5 ч (ТСХ в системе А) постепенно приливали 20 мл холодного насыщенного раствора NaCl и прекращали охлаждение. Смесь трижды экстрагировали этилацетатом, объединенный экстракт промывали насыщенным раствором NaCl, сушили Na₂SO₄ и фильтрат упаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке, элюируя хлороформом. Фракции отбирали, контролируя данными ТСХ в системе А. Получали 0,52 г (58%) защищенного арабинозида (III) и 0,18 г (18%) рибозида (IV).

1-(β-D-Арабинофуранозил)-3-циано - 4,6-диметилмеркаптопиразоло[3,4-d]пиримидин (V). К раствору 5,51 г (9,0 ммоль) защищенного арабинозида (III) в 27 мл тетрагидрофурана прибавляли 15 мл 1 М раствора фторида тетра-*n*-бутиламмония в тетрагидрофуране и перемешивали 2 ч при 20°С. Затем растворитель отгоняли в вакууме, остаток промывали эфиром, кристаллизовали из воды и затем перекристаллизовывали из этанола. Получали 2,74 г арабинозида (V). Из маточных растворов выделили хроматографией на пластинках в системе Б еще 0,36 г соединения (V). Общий выход 3,10 г (93%). ИК-спектр: 2220 см⁻¹ (C≡N).

1-(2-О-Метилмеркаптометил-β-D - рибофуранозил)-3-циано-4,6-диметилмеркаптопиразоло[3,4-d]пиримидин (VI). Смесь 0,085 г (0,13 ммоль) защищенного метилмеркаптометильного производного рибозида (IV) и 0,35 мл 1 М раствора фторида тетра-*n*-бутиламмония в тетрагидрофуране перемешивали в 1 мл тетрагидрофурана 18 ч при 20°С. Растворитель отгоняли в вакууме и остаток хроматографировали на пластинке в хлороформе, затем в системе Б. Получали 0,035 г (65%) соединения (VI), т.пл. 195–197°С.

1-(β-D-Арабинофуранозил)-3-карбамоил - 4,6-диметилмеркаптопиразоло[3,4-d]пиримидин (VII). К суспензии 0,44 г арабинозида (V) в 30 мл воды приливали при перемешивании смесь 30 мл 3% водного раствора перекиси водорода и 3,43 г 25% водного раствора KOH и продолжали перемешивание 2 ч при 20°С. Затем реакционную массу нейтрализовали уксусной кислотой и упаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на пластинках в системе В. Выделяли 0,25 г (54%) карбамоильного производного (VII) и 0,04 г (11%) исходного арабинозида (V). ИК-спектр: 1605, 1675 см⁻¹ (CONH₂).

1-(β-D-Арабинофуранозил)-3 - карбамоил-4-амино-6-метилмеркаптопиразоло[3,4-d]пиримидин (VIII). Раствор 0,37 г (0,96 ммоль) соединения (VII) в 25 мл безводного метанола, насыщенного аммиаком при 0°С, нагревали в стальной ампуле 16 ч при 80°С. Раствор охлаждали, растворитель отгоняли в вакууме, остаток кристаллизовали из 50% водного этанола. Выход моноаминопроизводного (VIII) 0,28 г (82%). ИК-спектр: 1605, 1665 см⁻¹ (CONH₂), 1645 см⁻¹ (NH₂).

1-(β-D-Арабинофуранозил)-3-карбамоил - 4-амино-6-метилсульфонилпиразоло[3,4-d]пиримидин (IX). К суспензии 0,25 г (0,70 ммоль) соединения (VIII) в 7 мл метанола прибавляли при перемешивании 0,58 г (3,36 ммоль) *m*-хлорнадбензойной кислоты. Смесь перемешивали 1 ч при 20°С, затем фильтровали, осадок промывали хлороформом и высушивали. Получали 0,22 г (81%) соединения (IX). ИК-спектр: 1136, 1322 см⁻¹ (S=O).

1-(β-D - Арабинофуранозил)-3-карбамоил - 4,6-диаминопиразоло[3,4-d]пиримидин (X). Помещали 0,20 г (0,51 ммоль) арабинозида (IX) в стальную ампулу с 10 мл жидкого аммиака и выдерживали 84 ч при 20°С. Остаток после испарения аммиака хроматографировали на пластинках в системе В дважды. Выделяли 0,14 г (83%) диаминопроизводного (X). Аналитически чистый образец получали перекристаллизацией вещества из 50% водного этанола. ИК-спектр: 1575, 1605 см⁻¹ (CONH₂), 1625, 1650 см⁻¹ (NH₂).

ЛИТЕРАТУРА

1. Montgomery J. A., Shortnacy A. T., Arnett G., Shannon W. M. // J. Med. Chem. 1977. V. 20. № 3. P. 401–404.
2. Suhadolnik R. Nucleoside Antibiotics. N. Y.: Wiley Intersci, 1970. P. 442.
3. Преображенская М. Н., Мельник С. Я. // Итоги науки и техники. Биоорганическая химия. М.: ВИНТИ, 1984. Т. 1.
4. Гараева Л. Д., Корбух И. А., Добрынин Я. В., Николаева Т. Г., Преображенская М. Н. // Хим.-фарм. журн. 1988. № 7. С. 798–802.
5. Корбух И. А., Гараева Л. Д., Якунина Н. Г., Кашутина Э. А., Преображенская М. Н. // Биоорганическая химия. 1986. Т. 12. № 4. С. 539–547.
6. Корбух И. А., Якунина Н. Г., Преображенская М. Н. // Биоорганическая химия. 1980. Т. 6. № 11. С. 1632–1638.
7. Robins M. J., Maccoss M. // Chemistry and Biology of Nucleosides and Nucleotides/ Eds Harmon R. E., Robins M. K., Townsend L. B. N. Y.— S. Francisco — L.: Acad. Press, 1978. P. 311–328.

8. Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Недорезова Т. П., Ярцева И. В., Жукова О. С., Добрынин Я. В., Преображенская М. Н., Колесников С. П., Ли В. Я., Рогожин И. С., Нефедов О. М., Чекунова Э. В., Маренникова С. С. // Биооргани. химия. 1985. Т. 11. № 9. С. 1248-1252.

Поступила в редакцию
13.V.1988

SYNTHESIS AND CHEMICAL TRANSFORMATIONS
OF 1- β -D-ARABINOFURANOSIDES OF 3,4,6-TRISUBSTITUTED
PYRAZOLO[3,4-*d*]PYRIMIDINES

GARAEVA L. D., YARTSEVA I. V., PREOBRAZHENSKAYA M. N.*

*All-Union Cancer Research Centre; *Institute of New Antibiotics Research,
Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow*

1- β -D-Arabinofuranosyl-3-cyano-4,6-dimethylthiopyrazolo [3, 4-*d*] pyrimidine was obtained from the corresponding 1- β -D-ribofuranoside via its 3', 5'-O-tetraisopropylidisiloxanediyl derivative by Ac₂O/DMSO oxidation and subsequent NaBH₄ reduction (inversion of C2'-configuration). 1- β -D-Arabinofuranosyl-3-cyano-4,6-dimethylthiopyrazolo [3, 4-*d*] pyrimidine was then transformed into 1- β -D-arabinofuranosyl-3-carboxamido-4,6-diaminopyrazolo [3, 4-*d*] pyrimidine, oxidation of 6-methylthio group by *m*-chloroperbenzoic acid promoting the substitution of this nonreactive group.