



УДК 547.963.3.057

© 1990 г.

*И. П. Смирнов, С. В. Кочеткова, Т. Л. Цилевич,
А. А. Хорлин, В. П. Готтлих,
В. Л. Флорентьев*

СОЕДИНЕНИЯ, ПОДОБНЫЕ АЦИКЛОВИРУ VI*. СИНТЕЗ ОПТИЧЕСКИ АКТИВНЫХ 1',2'-СЕКОНУКЛЕОЗИДОВ

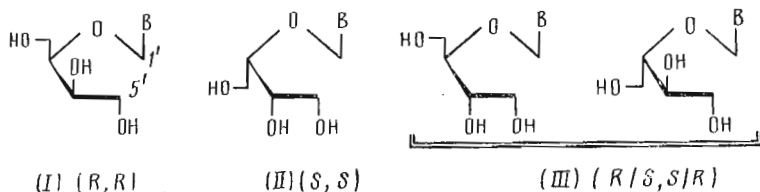
Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта АН СССР, Москва

Предложен удобный метод синтеза (3*R*, 4*R*)-, (3*S*, 4*S*)- и (3*R/S*, 3*S/R*)-4,5-дигидрокси-3-гидрокси-метил-2-оксапентильных производных тимина, цитозина, урацила, аденина и гуанина («полных» ациклических аналогов природных нуклеозидов с «разорванной» С1'—С2'-связью) путем конденсации триметилсилильных производных нуклеиновых оснований (для аденина — натриевой соли) с (3*R*, 4*R*)-, (3*S*, 4*S*)- и (3*R/S*, 4*S/R*)-4,5-диацетокси-3-ацетокси-метил-1-хлор-2-оксапентанами в отсутствие катализатора с последующим удалением защитных групп.

Синтезу и изучению свойств ациклических аналогов нуклеозидов в настоящее время уделяется значительное внимание, так как среди представителей этого класса соединений обнаружены вещества, обладающие высокой противовирусной активностью [2].

«Полные» ациклические аналоги, т. е. аналоги, содержащие в псевдогликозидном остатке все функциональные группы рибозы, уже обращали на себя внимание как интересные объекты при поиске новых веществ, обладающих антивирусной активностью, и при исследовании связи между структурой и активностью. Впервые о синтезе аналога гаунозина с «разорванным» по С1'—С2'-связи фуранозным циклом сообщалось в работе [3]. Позднее Мак-Косс и соавт. [4, 5] осуществили синтез всех четырех его возможных стереоизомеров, исходя из соответствующих защищенных природных сахаров. Однако девятистадийный синтез не располагал к продолжению систематической работы с целью получения указанных производных всех природных оснований. В дальнейшем появилась статья Вемисетти и др. [6], где описано получение одного из четырех стереоизомеров 1',2'-секогуанозина и урацила.

В настоящей работе предложен удобный метод синтеза двух энантиомеров (*R,R* и *S,S*) и рацемической смеси (*R/S*, *S/R*) 1',2'-секо-нуклеозидов (I)—(III), исходя из *D*-, *L*- и *мезо*-винной кислот соответственно.



B = урацил-1-ил (а), цитозин-1-ил (б), тимин-1-ил (в), аденил-1-ил (г), гуанин-1-ил (д)

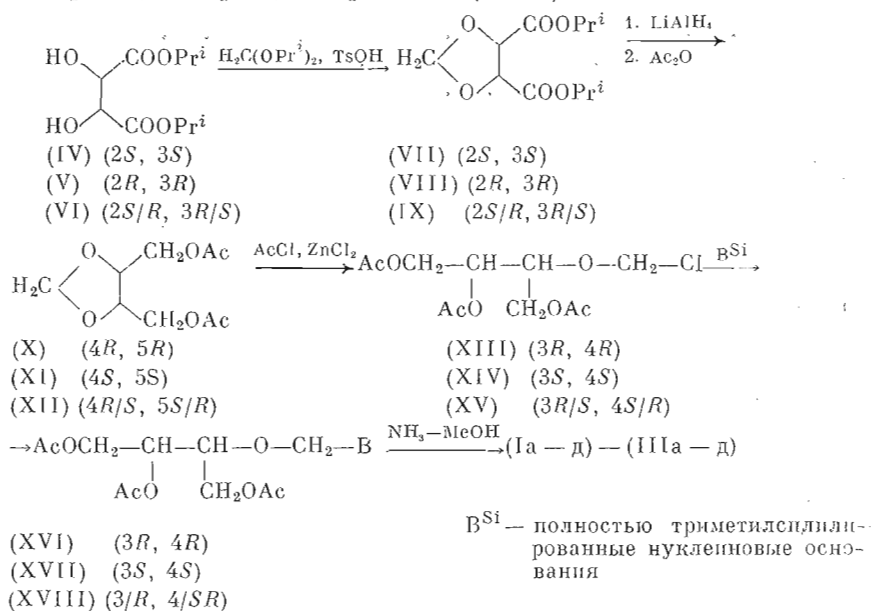
Идея синтеза заключалась в построении 1,3-диоксолана с участием гидроксильных групп диэфиров винных кислот, восстановлении алкоксикарбонильных групп до гидроксиметильных, ацилировании образовавшихся гидроксидов и, наконец, размыкании защищенного диоксолана

* Сообщение V см. [1].

ацетилхлоридом. Полученный в результате этой последовательности реакций алкилирующий агент можно было бы использовать для синтеза целевых соединений.

Однако попытка получения диоксолана классической реакцией диэтилового эфира винной кислоты с параформом в присутствии *n*-толуолсульфокислоты оказалась неудачной. Выход диоксолана был чрезвычайно низок, в основном были получены полимерные продукты.

В связи с этим для синтеза бис(алкоксикарбонил)диоксолана была использована реакция переацеталирования (схема).



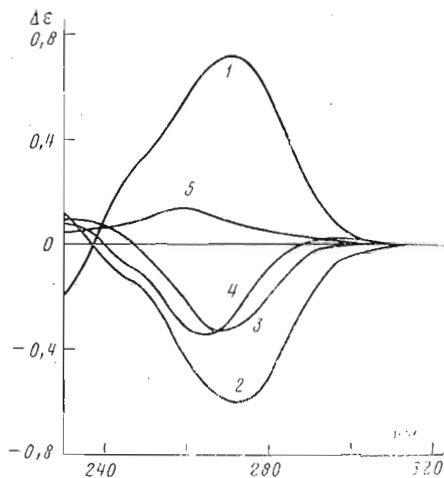
В качестве метилирующего агента был выбран диизопропилацеталь-формальдегида, поскольку в ряду низкокипящих ацеталей он характеризуется наибольшей разницей температуры кипения по сравнению с температурой кипения соответствующего спирта (21° С), что принципиально важно, так как достичь хороших выходов продукта можно, только сдвигая равновесие реакции отгонкой образующегося спирта. Чтобы избежать трудностей с выделением и идентификацией продукта, которые могут возникнуть вследствие протекающих побочно реакций переэтерификации (пробные опыты показали, что в условиях переацеталирования интенсивно протекает и переэтерификация), реакцию проводили с диизопропиловыми эфирами винных кислот (IV)—(VI). Из них кипячением с диизопропилацеталем формальдегида в присутствии *n*-толуолсульфокислоты получены бис(изопропоксикарбонил)диоксоланы (VII)—(IX). Восстановление сложноэфирных групп соединений (VII)—(IX) алюмогидридом лития в диэтиловом эфире и последующее ацетилирование приводило к (4*R*, 5*R*)-, (4*S*, 5*S*)- и (4*R/S*-, 5*S/R*)-4,5-диацетоксиметил-1,3-диоксоланом (X), (XI) и (XII) соответственно. В случае диэфиров (VII) и (VIII) хорошие результаты были получены с 2,6-кратным избытком восстановителя, а для восстановления соединения (IX) потребовался 5-кратный избыток алюмогидрида. Размыканием диоксоланового цикла ацетилхлоридом в присутствии безводного хлористого цинка получены алкилирующие агенты — (3*R*, 4*R*)-, (3*S*, 4*S*)- и (3*R/S*, 4*S/R*)-4,5-диацетокси-3-ацетоксиметил-1-хлор-2-оксапентаны (XIII), (XIV) и (XV).

Конденсацию триметилсилильных производных урацила, тимина, цитозина и гуанина осуществляли с 1,5-кратным избытком алкилирующих агентов (XIII), (XIV) и (XV) без катализатора, причем в случае пиримидиновых оснований — в смеси гексаметилдисилазан — ацетонитрил, а в случае гуанина — в смеси гексаметилдисилазан — 1,2-дихлорэтан. Для получения аналогов аденозина натриевую соль аденина, приготовленную действием гидрида натрия на суспензию аденина в DMF,

обрабатывали алкилирующими агентами (XIII), (XIV) и (XV). Защищенные ациклонуклеозиды (XVIa—д), (XVIIa—д) и (XVIII a—д) очищали с помощью колоночной хроматографии на силикагеле. Удаление защитных групп метанольным раствором аммиака приводило к ациклонуклеозидам (Ia—д), (IIa—д) и (IIIa—д). Выходы и температуры плавления конечных продуктов приведены в табл. 1.

Строение полученных соединений подтверждено данными УФ- и ПМР-спектров (табл. 1, 2). ПМР-спектры позволяют однозначно определить строение гидроксильного заместителя, которое следует из химических сдвигов, соотношения интегральных интенсивностей и мультиплетности сигналов. Сигналы гидроксильных групп хорошо идентифицируются в спектрах, снятых в $DMSO-d_6$, так как они быстро исчезают при добавлении D_2O . Присутствие в спектрах ПМР двух триплетов и дублета в области поглощения гидроксильных групп указывает на наличие в ациклическом остатке двух первичных и одного вторичного гидроксильных групп. Места присоединения гидроксильного остатка к нуклеиновым основаниям определяли как по химическому сдвигу ядерных протонов в спектрах ПМР, так и по УФ-спектрам.

Оптическая активность соединений (Ia—д) и (IIa—д) и их энантиомерность подтверждены спектрами КД (табл. 1 и рисунок). Данные спектров КД позволяют сделать некоторые выводы о конформации синтезированных соединений. Ранее на основе теоретических и экспериментальных данных была предложена схема, связывающая знак и величину Коттон-эффекта ациклонуклеозидов с конфигурацией хиральных центров и конформацией относительно псевдогликозидной связи [7] (*анти*-подобной конформацией мы будем называть такое положение нуклеинового основания относительно гидроксильного остатка, когда двугранный угол $C6(C8)-N1(N9)-C1'-O2' \sim 90^\circ$, в *син*-подобной конформации этот



Спектры КД (рН 7) соединений (Iб), (I), (Iв) (2), (Iв) (3), (Iа) (4) и (Iг) (5)

Таблица 1
Выходы, температуры плавления, УФ- и КД-спектры соединений (Ia—д) и (IIIa—д) *

Соединение	Выход, %	Т. пл., °C	УФ-спектр: λ_{max} , нм ($\epsilon \cdot 10^{-3}$)			КД-спектр (рН 7) **	
			рН 1	рН 7	рН 13	λ_{extr}	$\Delta\epsilon$
(Iа)	58	Масло	258(11,8)	258(11,2)	256(8,10)	265	-0,35
(Iб)	63	158—159	277(13,2)	268(8,11)	267(8,21)	270	-0,33
(Iв)	69	108—110	265(10,7)	265(9,45)	265(6,96)	267	-0,60
(Iг)	53	140—142	261(12,4)	261(12,2)	260(12,2)	255	0,13
(Iд)	39	186—188	254(10,5)	249(9,71)	255 ** (7,99)	**	
			272 ** (8,24)	273(7,67)	267(8,46)		
(IIIа)	57	132—134	259(11,4)	259(10,4)	258(8,10)		
(IIIб)	61	144—146	277(13,4)	269(8,26)	269(8,71)		
(IIIв)	68	148—150	266(9,79)	266(8,81)	265(6,71)		
(IIIг)	51	168—170	257(14,8)	259(14,5)	259(14,9)		
(IIIд)	42	192—194	255(11,7)	248(10,8)	256 ** (8,87)		
			272 ** (8,86)	272(8,17)	268(9,34)		

* Данные для соединений (IIIa—д) в пределах экспериментальной ошибки совпадают с данными для соединений (Ia—д).

** КД соединений (Ia—г) в пределах экспериментальной ошибки равен КД соединений (Ia—г) с обратным знаком (см. рисунок).

* Перегиб спектральной кривой.

** Эффект Коттона за порогом чувствительности прибора.

Спектры ПМР соединений (Ia-d) и (IIIa-l) *

Соединение	Химический сдвиг, м.д. (КССВ, Гц)							
	1'-CH ₂ (с)	3''-CH ₂ ; 4'-CH; 3'-CH; 5'-CH ₂ (м)	3''-ОН ** (т)	4'-ОН ** (л)	5'-ОН ** (т)	H2 или H6	H8 или H5	Другие сигналы
(Ia)	5,14	3,10-3,65	4,55	4,41	4,39	7,60д (8)	5,54д (8)	11,20ус (3-NH)
(Iб)	5,12	3,20-3,70	4,57	4,42	4,39	7,56д (7,6)	5,67д (7,6)	7,10ус (4-NH ₂)
(Iв)	5,07	3,06-3,60	4,52	4,38	4,35	7,46к (1,5)		10,50ус (3-NH) 1,74д (1,5) (5-CH ₃)
(Iг)	5,59	3,09-3,69	4,60	4,43	4,36	8,15с	8,09с	7,13ус (6-NH ₂)
(Iд)	5,40	3,12-3,72	4,53	4,38	4,28		7,71с	6,42ус (2-NH ₂) 10,80ус (1-NH)
(IIIa)	5,11	3,09-3,69	4,49	4,59	4,33	7,59д (8)	5,53д (8)	9,04ус (3-NH)
(IIIб)	5,07	3,07-3,67	4,49	4,56	4,31	7,53д (7,6)	5,63д (7,6)	7,05ус (4-NH ₂)
(IIIв)	5,10	3,02-3,74	4,50	4,60	4,34	7,46к (1,5)		9,06ус (3-NH)
(IIIг)	5,60	2,94-3,76	4,50	4,60	4,32	8,16с	8,10с	1,75д (1,5) (5-CH ₃)
(IIIд)	5,39	2,95-3,71	4,50	4,59	4,31		7,71с	7,18ус (6-NH ₂) 6,44ус (2-NH ₂) 9,55ус (1-NH)

* Спектры соединений (IIa-d) совпадают со спектрами соединений (Ia-d).

** Константа спин-спинового взаимодействия 5 Гц.

угол $\sim 270^\circ$). В частности, для *D*-подобной конфигурации центров, имитирующих *C3'* и *C4'* фуранозного цикла (в случае изучаемых соединений это *C4'*- и *C3'*-атомы соответственно), и *анти*-подобной конформации пиримидинового основания относительный вклад этих хиральных центров в КД равен $-0,25$ и $-0,1$ соответственно. В соединениях (Ia—в) первый центр имеет *L*-подобную конфигурацию, а второй — *D*-подобную. Таким образом, в случае *анти*-подобной конформации следует ожидать для этих соединений отрицательного эффекта Коттона, по абсолютной величине равного 15% от эффекта соответствующих природных нуклеозидов. Данные табл. 1 позволяют утверждать, что полученные соединения существуют в растворе преимущественно в виде *анти*-подобной конформации (напомним, что величина $\Delta\epsilon$ для цитидина 3,1, а для уридина — 2,3).

Экспериментальная часть

Спектры ПМР записывали на спектрометре XL-100 (Varian, США), УФ-спектры — на приборе Ultrospec (LKB, Швеция), спектры КД — на дихрографе Jobin-Yvon Dichrograph III. ТСХ проводили на пластинках Silufol UV₂₅₄ (Kavalier, СССР), элюируя либо смесью EtOH — CHCl₃ (10 или 20% этанола), либо смесью изопропанол — аммиак — вода (7 : 2 : 1). Для колоночной хроматографии использовали силикагель L 40/100 (ЧССР). Смесь, полученную из 5 ммоль нуклеинового основания, разделяли на колонке размером 3 × 16 см. Элюировали смесью этанола с хлороформом (линейный градиент концентрации этанола). Данные элементного анализа синтезированных соединений отличались от рассчитанных величин не более чем на 0,2%.

Диизопропиловые эфиры (2S,3S)-, (2R,3R)- и (2R/S,3S/R)-2,3-O-метилвинных кислот (VII) — (IX). В двугорлую колбу, снабженную дефлегматором с нисходящим холодильником, помещали 117,2 г (0,5 моль) диизопропилового эфира *D*-, *L*- или *мезо*-винной кислоты, 79,2 г (0,6 моль) диизопропилацетата формальдегида и 2,5 г *n*-толуолсульфонокислоты. При кипячении отгоняли изопропиловый спирт, следя за тем, чтобы температура в парах не превышала 83° С. После отгонки практически всего спирта (теоретическое количество 77 мл) реакционную смесь охлаждали, растворяли в эфире и выливали в 50 мл насыщенного раствора Na₂CO₃, экстрагировали эфиром (4 × 50 мл), сушили над Na₂SO₄, упаривали и перегоняли. Выход продукта $\sim 80\%$.

Для производных (VII) и (VIII): т. кип. 115—130° С при 2 мм рт. ст., ПМР (CDCl₃), δ , м. д.: 5,20 (с, 2H, CH₂), 5,0 (ст, 2H, J 6 Гц, CH(CH₃)), 4,59 (с, 3H, H₂ и H₃), 1,29 (д, 12H, J 6 Гц, (CH₃)₂CH).

Для диоксолана (IX): т. кип. 100—115° С при 2 мм рт. ст., ПМР (CDCl₃), δ , м. д.: 5,27 (с, 1H, (*pro-S*)-H (2-CH₂)), 5,07 (с, 1H, (*pro-R*)-H (CH₂)), 4,95 (ст, 2H, J 6 Гц, CH (Pr¹)), 4,63 (с, 2H, H₂ и H₃), 1,21 (д, 12H, J 6 Гц, CH₃(Pr²)).

(4R,5R)- и (4S,5S)-4,5-Диацетокси-1,3-диоксоланы (X) и (XI). К суспензии 49,4 г (1,3 моль) алюмогидрида лития в 350 мл абс. эфира прибавляли по каплям при перемешивании раствор 246 г (1,0 моль) диоксолана (VII) или (VIII) в 200 мл абс. эфира. Реакционную смесь кипятили 1 ч и оставляли на ночь. Затем при перемешивании добавляли по каплям воду до превращения выделения водорода. Смесь отфильтровывали и осадок экстрагировали 20% этанолом в хлороформе (8 × 700 мл). Объединенные экстракты упаривали, остаток высушивали упариванием с абс. пиридином (2 × 50 мл). К остатку приливали 300 мл абс. пиридина и 150 мл Ac₂O и оставляли на 16 ч при 20° С, после чего добавляли 28 мл воды и через 1 ч пиридин упаривали в вакууме. Остаток выливали в насыщенный раствор NaHCO₃, экстрагировали хлороформом (5 × 150 мл), сушили над Na₂SO₄, упаривали, перегоняли. Выход 96,6 г (44%). Т. кип. 141—151° С при 2 мм рт. ст. ПМР (CDCl₃), δ , м. д.: 4,91 (с, 2H, H₂), 4,13 (д, 4H, J 4 Гц, 4'-CH₂ и 5'-CH₂), 3,88—4,18 (м, 2H, H₄ и H₅), 2,01 (с, 6H, CH₃CO).

(4R/S, 5S/R)-4,5-Диацетокси-1,3-диоксолан (XII) получали из диэфира (IX) по методике, приведенной выше, но на 0,1 моль эфира брали 0,25 моль.

LiAlH_4 . Выход 43%. Т. кип. 110–130° С при 2 мм рт. ст. ПМР (CDCl_3), δ , м. д.: 5,01 (с, 1H, (*pro-S*)-H (2- CH_2)), 4,70 (с, 1H, (*pro-R*)-H (2- CH_2)), 4,06 (д) (4H, J 2 Гц, 4'- CH_2 и 5'- CH_2), 3,88–4,18 (м, 2H, H4 и H5), 2,01 (с, 6H, CH_3CO).

(3*R*,4*R*)-, (3*S*,4*S*)- и (3*R/S*,4*S/R*)-4,5-Диацетокси-3-ацетоксиметил-1-хлор-2-оксапентаны (XIII)–(XV). К раствору 10,9 г (50 ммоль) диоксолана (X), (XI) или (XII) в 50 мл абс. бензола добавляли 5,4 мл AcCl и 75 мг свежеплавленного мелко растертого ZnCl_2 . Реакционную смесь перемешивали 18 ч при 20° С, осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали в вакууме при температуре не выше 30° С. Остаток растворяли в абс. Et_2O , при перемешивании добавляли 150 мкл сухого Et_3N и выдерживали 30 мин при –10° С. Выпавший осадок отфильтровывали и смесь упаривали при температуре не выше 30° С. Полученные хлориды (XIII)–(XV) использовали в последующих реакциях псевдогликозилирования без дополнительной очистки. Соединения (XIII) и (XIV) представляли собой вязкие масла, а хлорид (XV) при стоянии закристаллизовался (т. пл. 30–34° С).

ПМР (CDCl_3), δ , м. д.: (XIII) и (XIV) — 5,39 (с, 2H, 1- CH_2), 5,12 (дт, 1H, J 7,5 и 4,0 Гц, H4), 3,94–4,32 (м, 5H; H3, 3'- CH_2 , 5- CH_2), 1,98; 1,96; 1,95 (все с, 9H; 3', 4- и 5- CH_3CO). Для (XV) — 5,18 (с, 2H, 1- CH_2), 5,03 (дт, 1H, J 3 и 6 Гц, H4), 3,89–4,37 (м, 5H; H3, 3'- CH_2 , 5- CH_2), 1,96; 1,95 м. д. (все с, 9H, 3', 4- и 5- CH_3CO).

Силилирование нуклеиновых оснований. Суспензию 5 ммоль нуклеинового основания в 6 мл гексаметилдисилазана кипятили с 30 мг $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ до полного растворения твердой фазы (1–3 ч для пиримидиновых оснований и 14–16 ч для гуанина).

(3*R*,4*R*)-, (3*S*,4*S*)- и (3*R/S*,4*S/R*)-1-(4,5-Диокси-3-оксиметил-2-оксапент-1-ил)тимин-, урацил-, цитозин- и гуанин (Ia–в, д) — (IIIa–в, д). По окончании силилирования к раствору защищенного основания в гексаметилдисилазане приливали 5 мл абс. ацетонитрила (в случае гуанина — 1,2-дихлорэтана), доводили раствор до кипения, после чего добавляли 0,96 г (3,0 ммоль) хлорида (XIII), (XIV) или (XV) и смесь кипятили 1 ч, после чего добавляли еще 0,48 г соответствующего хлорида и затем через каждые 2 ч кипячения еще дважды добавляли по 0,48 г алкилирующего агента (XIII), (XIV) или (XV). Кипятили еще 3 ч и выдерживали 20 ч при 20° С, затем упаривали при температуре не выше 30° С. Остаток упаривали с абс. ацетонитрилом (3 × 30 мл, $\leq 30^\circ\text{C}$), растворяли в 40 мл этанола, оставляли на 30 мин и вновь упаривали. Из полученной смеси продукт выделяли хроматографией на колонке. Фракции, содержащие целевой продукт, упаривали, растворяли в 80 мл полунасыщенного при 0° С метанольного раствора аммиака и оставляли на 16 ч при 20° С. После упаривания метанола остаток перекристаллизовывали из смеси этанол — этилацетат (в случае гуанинового аналога — из водного этанола). Выходы и характеристики полученных соединений приведены в табл. 1, 2.

(3*R*,4*R*)-, (3*S*,4*S*)- и (3*R/S*,4*S/R*)-9-(4,5-диокси-3-оксиметил-2-оксапент-1-ил)аденин (Iz) — (IIIz). К суспензии 676 мг (5 ммоль) аденина в 15 мл абс. DMF добавляли 180 мг (6 ммоль) 80% суспензии гидроксида натрия в вазелиновом масле. Смесь встряхивали до прекращения выделения водорода, затем при перемешивании добавляли 2,4 г (7,5 ммоль) хлорида (XIII), (XIV) или (XV) и оставляли на 20 ч при 20° С. После этого реакционную смесь упаривали в вакууме, промывали гексаном, растворяли в спирте, отфильтровывали, остаток 3 раза промывали кипящим спиртом, объединенные фильтраты упаривали, остаток хроматографировали на колонке с силикагелем. Удаление ацетильных групп проводили так же, как в предыдущем опыте. Выходы и характеристики полученных соединений приведены в табл. 1, 2.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Щавелева И. Л., Кочеткова С. В., Цилевич Т. Л., Владыко Г. В., Коробченко Л. В., Бореко Е. И., Смирнов И. П., Хорлин А. А., Готтх В. П., Флорентьев В. Л. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 7. С. 960–968.

2. *Chu C. K., Culter S. J.* // *J. Heterocycl. Chem.* 1986. V. 23. № 2. P. 289—319.
3. *Schaeffer H. J.* // *Nucleosides, nucleotides, their biological applications* / Eds Rideout J. L., Henry D. W., Beacham L. M. N. Y.: Acad. Press, 1983. P. 1—17.
4. *MacCoss M., Chen A., Tolman R. L.* // *Tetrahedron Lett.* 1985. V. 26. № 21. P. 4287—4296.
5. *MacCoss M., Tolman R. L., Ashton W. T., Wagner A. F., Hannah J., Field A. K., Karkas J. D., Germershausen J. I.* // *Chem. scr.* 1986. V. 26. № 1. P. 113—121.
6. *Vemishetti P., Abushanab E., Leiby R. W., Panzica R. P.* // *Nucleosides and Nucleotides.* 1989. V. 8. № 2. P. 201—211.
7. *Крицын А. М., Михайлов С. Н., Мишарин А. Ю., Падюкова Н. Ш., Флорентьев В. Л.* // *Биоорганич. химия.* 1976. Т. 2. № 10. С. 1338—1350.

Поступила в редакцию
15.XII.1989

I. P. SMIRNOV, S. V. KOCHETKOVA, T. I. TSILEVICH, A. A. KHORLIN,
B. P. GOTTIKH, V. L. FLORENTIEV

COMPOUNDS RELATED TO ACYCLOVIR. VI. SYNTHESIS OF OPTICALLY ACTIVE 1',2'-SECONUCLEOSIDES

*V. A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR,
Moscow*

A convenient method is suggested of synthesis of (3*R*, 4*R*)-, (3*S*, 4*S*)- and (3*R*/*S*, 4*S*/*R*)-dihydroxy-3-hydroxymethyl-2-oxapentyl derivatives of thymine, cytosine, uracil, adenine and guanine («full» acyclic analogues of nucleosides with C1'—C2' bond cleaved) by condensation of trimethylsilyl derivatives of nucleic bases (sodium salt in case of adenine) with (3*R*, 4*R*)-, (3*S*, 4*S*)- and (3*R*/*S*, 4*S*/*R*)-4,5-diacetoxy-3-acetoxymethyl-1-chloro-2-oxapentanes without catalyst followed by deacetylation.