



УДК 547.854.4'455.466.057

© 1992 г.

А. А. Бахмедова, И. В. Ярцева, О. С. Жукова,  
Т. П. Волостюк\*, А. М. Юревич\*, С. Я. Мельник

## СИНТЕЗ И ЦИТОТОКСИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АНОМЕРНЫХ 5-ЗАМЕЩЕННЫХ 3'-АЗИДО-2', 3'-ДИДЕЗОКСИУРИДИНОВ

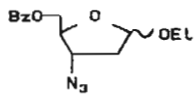
Онкологический научный центр РАМН, Москва;

\* Научно-производственное объединение «Витамины», Москва

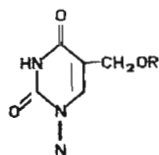
Гликозилирование триметилсилильных производных 5-гидроксиметил- или 5-бензилоксиметилурацила 3-азидо-2,3-дидезокси-5-О-бензоил-*D*-рибофуранозилхлоридом и последующее дезацилирование привело к получению аномерных 3'-азидо-2',3'-дидезокси-5-гидроксиметил- или -5-бензилоксиметилуридинов. Аномеры разделены препаративной ТСХ, их структура изучена методами УФ-, ИК- и <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопии. Показано, что 1-(3-азидо-2,3-дидезокси- $\alpha$ -*D*-рибофуранозил)-5-бензилоксиметилурацил, как и описанный ранее соответствующий  $\beta$ -аномер, обладает цитотоксическими свойствами *in vitro*: в концентрации  $10^{-5}$ – $10^{-6}$  М на 78,6–95,2% тормозит включение тимидина в ДНК клеток СаОв.

Для синтеза модифицированных по углеводу 5-замещенных 2'-дезоксинуридинов мы использовали схему, включающую в себя превращение 3',5'-ди-*O*-мезилата нуклеозида в 2,3'-ангидропроизводное, раскрытие ангидроцикла с образованием 3'-азидо-2',3'-дидезокси-5-замещенного уридина и дальнейшую трансформацию 3'-азидо- в amino- и морфолиногруппу [1, 2]. Попытка использовать эту схему для получения  $\alpha$ -аномеров 3'-азидо-2',3'-дидезокси-5-замещенных уридинов оказалась неудачной: из 3',5'-ди-*O*-мезилпроизводного  $\alpha$ -нуклеозида в условиях замыкания 2,3'-ангидроцикла образуется 2',3'-ненасыщенный  $\alpha$ -нуклеозид [2]. Не удалось также синтезировать 3'-азидо-2',3'-дидезокси-5-гидроксиметилуридин исходя из соответствующего 5-бензилоксиметилпроизводного [1].

В связи с этим был предпринят синтез упомянутых соединений гликозилированием 5-замещенных урацилов с использованием производного 3-азидо-2,3-дидезокси-*D*-рибофуранозы [3]. Защищенную азидодезоксирибозу (I) действием хлористого водорода в хлористом метиле превращали в 3-азидо-2,3-дидезокси-5-О-бензоил-*D*-рибофуранозилхлорид, который без очистки после отгонки растворителя конденсировали с триметилсилильным производным, полученным из 5-бензилоксиметилурацила (II). Образующуюся смесь аномерных *O*-ацилированных 3'-азидонуклеозидов (IV) и (V) без разделения обрабатывали метилатом натрия в метаноле и препаративной ТСХ выделяли 3'-азидо-2',3'-дидезокси-5-бензилоксиметилуридин (VI) и соответствующий  $\alpha$ -аномер (VII) примерно в равном соотношении. При гликозилировании 5-гидроксиметилурацила (III) для повышения стереоселективности использовали модификацию метода Форбрюггена, описанную в работе [4]. С этой целью триметилсилильное производное, полученное из 5-гидроксиметилурацила (III), конденсировали с 3-азидо-2,3-дидезокси-5-О-бензоил-*D*-рибофуранозилхлоридом в хлористом метиле в присутствии *p*-нитрофенола. После дезацилирования образующейся смеси нуклеозидов (VIII) и (IX) препаративной ТСХ выделяли 3'-азидо-2',3'-дидезокси-5-гидроксиметилуридин (X) и соответствующий  $\alpha$ -аномер (XI) в соотношении  $\approx 1:4$ .

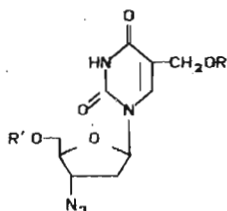


(I)



(II) R=Bzl

(III) R=H

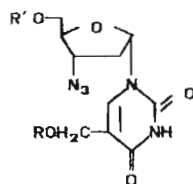


(IV) R=Bzl, R'=Bz

(VI) R=Bzl, R'=H

(VIII) R=H, R'=Bz

(X) R=R'=H



(V) R=Bzl, R'=Bz

(VII) R=Bzl, R'=H

(IX) R=H, R'=Bz

(XI) R=R'=H

Bz=COC<sub>6</sub>H<sub>5</sub>

Bzl=CH<sub>2</sub>C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>

Структура синтезированных соединений изучена методами УФ-, ИК- и <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопии. 3'-Азидонуклеозид (VI) идентичен соединению, полученному нами ранее трансформацией углеводного остатка в 5-бензидоксиметил-2'-дезоксинуридине [1]. Положение остатка азидодезоксирибозы при атоме азота N1 нуклеозидов (VII), (X) и (XI) подтверждено сохранением максимума поглощения в УФ-спектрах при переходе от pH 7 к pH 11. В ИК-спектрах нуклеозидов (VII), (X) и (XI) имеется полоса при 2100 см<sup>-1</sup>, свидетельствующая о наличии в их структуре азидогруппы. Сопоставление данных спектров <sup>1</sup>H-ЯМР пар нуклеозидов (VI), (VII) и (X), (XI) (см. таблицу) выявило отличительные особенности для α- и β-аномеров, подтверждающие правильность отнесения конфигурации гликозидного центра: характер расщепления сигнала протона H1' (дублет дублетов для α- и псевдотриплет для β-аномера), величины химических сдвигов протонов H2'а и H2'б (две группы сигналов при 2,8 и 2,2 м.д. для α- и мультиплет при 2,4 м.д. для β-аномера), а также смещение в слабое поле сигнала H4' у α- по сравнению с β-аномером [5]. Отмеченная ранее для 5-замещенных 3'-азидо-2',3'-дидезокси-нуклеозидов магнитная эквивалентность протонов H2'а и H2'б в <sup>1</sup>H-ЯМР-спектрах, снятых в CD<sub>3</sub>OD, свойственна лишь β-аномерам [1].

При изучении *in vitro* цитотоксические свойства были найдены у 3'-азидонуклеозидов (VII): в концентрации 10<sup>-5</sup>–10<sup>-4</sup> М он тормозит включение тимидина в ДНК клеток CaOv на 78,6–95,2% и, таким образом, не уступает по активности соответствующему β-аномеру, описанному в работе [1].

### Экспериментальная часть

Спектры <sup>1</sup>H-ЯМР синтезированных соединений записаны на приборе Bruker WH-360 (ФРГ), внутренний стандарт – тетраметилсилан. УФ-спектры получены на спектрофотометре Specord UV-VIS (ФРГ), длина оптического пути 1 см, растворитель – этанол. ИК-спектры записаны

Спектры <sup>1</sup>H-ЯМР синтезированных соединений в CD<sub>3</sub>OD

Соединение	Химические сдвиги, м. д.								другие протоны
	H6	H1'	H2'a	H2'б	H3'	H4'	H5'a	H5'б	
VI	8,00	6,15	2,40	2,40	4,33	3,92	3,82	3,73	7,20–7,40 (Ph), 4,57 (OCH <sub>2</sub> ), 4,22, 4,27 (CH <sub>2</sub> O)
VII	7,75	6,15	2,80	2,20	4,20–4,40 *		3,65	3,61	7,20–7,40 (Ph), 4,58 (OCH <sub>2</sub> ), 4,20–4,40 * (CH <sub>2</sub> O)
X	7,94	6,18	2,42	2,42	4,33	3,93	3,82	3,75	4,32, 4,36 (CH <sub>2</sub> O)
XI	7,73	6,16	2,82	2,22	4,27–4,40 *		3,67	3,63	4,27–4,40 * (CH <sub>2</sub> O)

Константы спин-спинового взаимодействия, Гц \*\*

J <sub>1',2'a</sub>	J <sub>1',2'б</sub>	J <sub>2'a,2'б</sub>	J <sub>2'a,3'</sub>	J <sub>2'б,3'</sub>	J <sub>3',4'</sub>	J <sub>4',5'a</sub>	J <sub>4',5'б</sub>	J <sub>5'a,5'б</sub>
6,2	6,2		6,2	6,2	5,0	3,4	3,4	12,2
6,9	3,2	14,7	6,9	3,2		4,14	4,14	12,5
6,4	6,4		6,4	6,4	5,0	3,5	3,5	12,0
6,8	3,4	14,4	7,0	3,4				

\* Сигналы перекрываются.

\*\* Соединения расположены в том же порядке, что и в верхней части таблицы.

на приборе Perkin – Elmer 283 (США) в таблетках с КВг. Для ТСХ использовали силуфол UV<sub>254</sub> (Kavalier, ЧСФР), препаративную хроматографию проводили на пластинах (20×20 см), используя силикагель LSL<sub>254</sub> 5–40 мкм (Chemapol, ЧСФР) при толщине слоя 1 мм. Для хроматографии использовали смеси растворителей: хлороформ – метанол, 10:1 (А), 15:1 (Б), 5:1 (В). Цитотоксические свойства синтезированных соединений изучали на культуре клеток карциномы яичника человека СаОv по методике, описанной в работе [6].

*3-Азидо-2,3 - дидезокси - 5-О-бензоил-D-рибофуранозилхлорид.* Растворяли этил-3-азидо-2,3-дидезокси-D-рибофуранозид (I) [3] в безводном хлористом метиле, охлаждали до 0°С и в течение 20 мин пропускали через раствор газообразный HCl. Реакционную смесь выдерживали 20 мин при охлаждении, 10 мин при 20–22°С, после чего упаривали в вакууме без нагревания. Остаток дважды соупаривали с безводным хлористым метиленом и без очистки использовали для гликозилирования.

*Аномерные 3'-азидо-2',3'-дидезокси-5-бензилоксиметилуридинь (VI) и (VII).* Смесь, состоящую из 1,8 г (7,75 ммоль) 5-бензилоксиметилурацила (II), 15 мг сульфата аммония и 18 мл гексаметилдисилазана, кипятили 7 ч. Избыток гексаметилдисилазана отгоняли в вакууме, остаток растворяли в 15 мл безводного хлористого метилена и прибавляли к раствору 3-азидо-2,3-дидезокси-5-О-бензоил-D-рибофуранозилхлорида (из 1,7 г (6,05 ммоль) этил-3-азидо-2,3-дидезокси-5-О-бензоил-D-рибофуранозид (I)) в 15 мл хлористого метилена. Реакционную смесь перемешивали 24 ч при 20–22°С, затем промывали последовательно раствором NaHCO<sub>3</sub> (2×15 мл), водой. Растворитель отгоняли в вакууме, остаток сушили над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Получали 1,68 г (45,4%) смеси О-ацилированных азидонуклеозидов (IV) и (V), которую растворяли в 80 мл 0,1 н. метилата

натрия в метаноле. Через 3 ч при 20–22°С к реакционной смеси добавляли дауэкс 50 (Н<sup>+</sup>) до рН 7 по универсальному индикатору. Смолу отделяли, растворитель отгоняли в вакууме, остаток растворяли в 10 мл воды и промывали петролейным эфиром (2×10 мл). Водный раствор упаривали в вакууме, остаток (0,8 г) разделяли препаративной ТСХ в системе А. Из верхней зоны выделяли 0,22 г (17%) 3'-азидо-2',3'-дидезокси-5-бензилоксиметилуридина (VI), который, по данным УФ-, ИК- и <sup>1</sup>H-ЯМР-спектра, идентичен соединению, описанному в работе [1]. Из нижней зоны выделяли 0,25 г (19%) 1-(3-азидо-2,3-дидезокси- $\alpha$ -D-рибофуранозил)-5-бензилоксиметилурацила (VII). УФ-спектр:  $\lambda_{\max}$  265 нм,  $\epsilon$  9400. ИК-спектр:  $\nu$  2100 см<sup>-1</sup>. Найдено, %: N 18,76. С<sub>17</sub>H<sub>19</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>. Вычислено, %: N 18,76.

*Аномерные 3'-азидо-2',3'-дидезокси-5-гидроксиметилуридины (X) и (XI).* К суспензии 1,5 г (11,89 ммоль) 5-гидроксиметилурацила (III) в 40 мл бензола приливали при перемешивании 5,61 мл триметилхлорсилана, затем в течение 30 мин добавляли по каплям 6,04 мл триэтиламина. Через 20 ч при 20–22°С хлоргидрат триэтиламина отделяли, промывали бензолом (2×10 мл), объединенные фильтраты упаривали в вакууме. Остаток растворяли в 10 мл безводного хлористого метилена, прибавляли 0,52 г (3,74 ммоль) *n*-нитрофенола и 3-азидо-2,3-дидезокси-5-О-бензил-D-рибофуранозилхлорид (из 2,0 г (7,12 ммоль) азидорибозида (I)) в 10 мл хлористого метилена. Через 24 ч при 20–22°С *n*-нитрофенол отделяли, фильтрат промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub> (2×15 мл), водой. Растворитель упаривали в вакууме, остаток (2,66 г) сушили над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> и очищали препаративной ТСХ в системе Б. Получали 0,67 г (14,6%) смеси О-ацилированных азидонуклеозидов (VIII) и (IX), которую растворяли в 35 мл 0,1 н. метилата натрия в метаноле. Через 1,5 ч при 20–22°С реакционную смесь нейтрализовали дауэксом 50(Н<sup>+</sup>), смолу отделяли, промывали метанолом, объединенные фильтраты упаривали в вакууме. Остаток (0,57 г) разделяли препаративной ТСХ в системе В. Из верхней зоны выделяли 0,03 г (6,12%) 3'-азидо-2',3'-дидезокси-5-гидроксиметилуридина (X). УФ-спектр:  $\lambda_{\max}$  265 нм,  $\epsilon$  8000. ИК-спектр:  $\nu$  2100 см<sup>-1</sup>. Найдено, %: С 43,08; Н 5,03; N 24,43. С<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>. Вычислено, %: С 42,40; Н 4,63; N 24,73. Из нижней зоны выделяли 0,41 г (22,45%) 1-(3-азидо-2,3-дидезокси- $\alpha$ -D-рибофуранозил)-5-гидроксиметилурацила (XI). УФ-спектр:  $\lambda_{\max}$  265 нм,  $\epsilon$  7600. ИК-спектр:  $\nu$  2100 см<sup>-1</sup>. Найдено, %: С 42,32; Н 4,90; N 24,70. С<sub>10</sub>H<sub>13</sub>N<sub>5</sub>O<sub>5</sub>. Вычислено, %: С 42,40; Н 4,63; N 24,73.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Ярцева И. В., Жукова О. С., Яворская Н. П. // Биоорганич. химия. 1991. Т. 17. № 8. С. 1101–1110.
2. Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Ярцева И. В., Преображенская М. Н., Загуляева О. А., Мамаев В. П. // Биоорганич. химия. 1991. Т. 17. № 11. С. 1526–1533.
3. Mikerin I. E., Nikitenko A. A., Arshava V. M., Raifeld Yu. E. // 7<sup>th</sup> International Conference on AIDS. Florence, 16–21 June, 1991. Abstracts Book. V. 2. N W. A. 1042. P. 102.
4. Aoyama H. // Bull. Chem. Soc. Japan. 1987. V. 60. P. 2073–2077.
5. Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Миникер Т. Д., Ярцева И. В., Преображенская М. Н., Загуляева О. А., Мамаев В. П., Чекунова Э. В., Маренникова С. С. // Биоорганич. химия. 1984. Т. 10. № 12. С. 1645–1654.
6. Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Недорезова Т. П., Ярцева И. В., Жукова О. С., Добрынин Я. В., Преображенская М. Н., Колесников С. П., Рогожин Н. С., Нефедов О. М., Чекунова Э. В., Маренникова С. С. // Биоорганич. химия. 1985. Т. 11. № 9. С. 1248–1252.

Поступила в редакцию  
17.IX.1991

A. A. BAKHMEDOVA, I. V. YARTSEVA, O. S. ZHUKOVA, T. P. VOLOSUYUK\*,  
A. M. YURKEVICH\*, S. Ya. MELNIK

**SYNTHESIS AND CYTOTOXIC PROPERTIES OF ANOMERIC  
5-SUBSTITUTED 3'-AZIDO-2',3'-DIDEOXYURIDINES**

*Cancer Research Centre, Russian Academy of Medical Sciences, Moscow;  
\*Scientific Industrial Association «Vitamins», Moscow*

Glycosylation of trimethylsilyl derivatives of 5-benzyloxymethyl- and 5-hydroxymethyluracil with 3-azido-2,3-dideoxy-5-O-benzoyl-D-ribofuranosyl chloride (prepared from ethyl 3-azido-2,3-dideoxy-5-O-benzoyl-D-ribofuranoside) and subsequent deacylation gave in both cases a mixture of anomeric 3'-azido-2',3'-dideoxy-5-benzyloxymethyl-or-5-hydroxymethyluridines. The anomers were separated by preparative TLC and their structures were studied by UV, IR and <sup>1</sup>H-NMR spectroscopy. It is shown that 1-(3-azido-2,3-dideoxy- $\alpha$ -D-ribofuranosyl)-5-benzyloxymethyluracil has cytotoxic activity in vitro: in 10<sup>-5</sup>-10<sup>-6</sup> M concentrations it inhibits the thymidine incorporation into DNA of CaOv cells on 78,6-95,2%.

Технический редактор *Н. Н. Беллева*

Сдано в набор 20.12.91	Подписано к печати 27.01.92	Формат бумаги 70×100 <sup>1/16</sup>		
Оффсетная печать	Усл. печ. л. 11,7	Усл. кр.-отт. 8,1 тыс.	Уч.-изд. л. 14,0	Бум. л. 4,5
	Тираж 679 экз.	Зак. 2285	Цена 2 р 60 к.	

Адрес редакции: 117871, ГСП-7, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, корп. 32, комн. 306  
Телефон: 330-60-38

2-я типография издательства «Наука», 121089, Москва, Г-99, Шубинский пер., 6