



УДК 577.113.3

## СИНТЕЗ 5'-Н-ФОСФОНАТОВ И ФТОРФОСФАТОВ 2'-МОДИФИЦИРОВАННЫХ НУКЛЕОЗИДОВ

© 1996 г. Ю. А. Шаркин, М. В. Ясько, А. Ю. Скоблов, Л. А. Александрова

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 117984, Москва, ул. Вавилова, 32

Поступила в редакцию 06.06.95 г.

Осуществлен синтез ряда 5'-Н-фосфонатов и фторфосфатов модифицированных по 2'-положению нуклеозидов, как соединений с возможными противовирусными свойствами. Для конденсации 2'-азидо-2'-дезоксид- или 2'-галоген-2'-дезоксидрибонуклеозидов, а также 2'-азидо-2'-дезоксидарабинонуклеозидов с фосфористой или фторфосфорной кислотами использовали N,N'-дициклогексилкарбодимид или 2,4,6-триизопропилбензолсульфохлорид. 5'-Н-Фосфонат и фторфосфат 9-(2-амино-2-дезоксид-β-D-арабинофуранозил)аденина синтезировали восстановлением β-меркаптоэтанолом соответствующих 2'-азидопроизводных. Показано, что при проведении реакции трансгликозилирования замена в 1-(2-амино-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)урациле N-трифторацетильной защитной группы на N-бензилоксикарбонильную приводит к преимущественному образованию β-аномера 2'-амино-2'-дезоксидаденозина, что существенно упрощает его синтез.

*Ключевые слова:* нуклеозиды; нуклеотиды, аналоги.

Ранее было установлено, что некоторые 5'-Н-фосфонаты и фторфосфаты нуклеозидов проявляют противовирусную активность, близкую к исходному нуклеозиду, при более низкой токсичности [1, 2]. Поэтому представляет интерес синтез новых 5'-Н-фосфонатов и фторфосфатов нуклеозидов и изучение их противовирусных свойств.

В настоящей работе представлен синтез ряда ранее не описанных 5'-Н-фосфонатов и фторфосфатов рибо- и арабинонуклеозидов, содержащих в 2'-положении галоген (IX, X), азидо- (XI, XV, XVII) или аминогруппу (XII, XIII, XVI, XVIII).

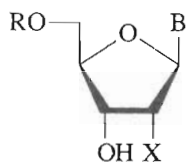
Для получения исходных нуклеозидов в описанные ранее методики нами внесены ряд изменений, позволивших упростить синтез и выделение необходимых соединений и значительно повысить выходы.

Ранее было показано [3], что при получении пуриновых 2'-амино-2'-дезоксинуклеозидов в результате взаимодействия силилированных N-ацилированных пуриновых оснований и 1-(2-трифторацетиламино-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)урацила в присутствии триметилсилилтрифторметансульфоната образуются значительные количества (30–60%) α-аномеров этих нуклеозидов. Мы предположили, что введение в 2'-положение объемной защитной группы будет способствовать предпо-

читательному образованию β-аномера. Поэтому нами был синтезирован 1-{2-(N-бензилоксикарбонил)амино-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил}урацил (II) обработкой 1-(2-амино-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)урацила (I) [3] бензилоксикарбонилхлоридом. Нуклеозид (II) был введен в реакцию трансгликозилирования с N<sup>6</sup>-бензоиладенином в условиях [3] (схема 1).

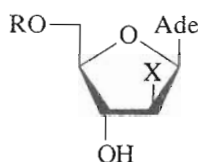
Действительно, при такой замене N-защитной группы количество образующегося 9-(2-амино-2-дезоксид-α-D-рибофуранозил)аденина не превышает 5%, что было показано ВЭЖХ-анализом аликвот реакционной смеси после удаления N<sup>6</sup>-бензоильной группы. По-видимому, бензилоксикарбонильная группа принимает участие в образовании промежуточного карбокатиона, что способствует высокой избирательности нуклеозидного синтеза. В результате реакции происходило отщепление N-бензилоксикарбонильной группы. По окончании реакции N<sup>6</sup>-бензоильную группу удаляли обработкой NH<sub>3</sub>/MeOH. После очистки хроматографией на дауэксе 50 (H<sup>+</sup>) и дауэксе 1 (OH<sup>-</sup>) по методикам, описанным ранее [4], и кристаллизации из этанола целевой 9-(2-амино-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)аденин (III), гомогенный согласно ТСХ- и ВЭЖХ-анализу (рисунок), был получен с выходом 81%. Его характеристики совпадали с литературными данными [3, 5]. Для защиты 2'-аминогруппы соединение (III) обрабатывали метиловым эфиром трифторуксусной кислоты.

Сокращения: BSA – N,O-бис(триметилсилил)ацетамид, CDI – N,N'-карбонилдимидазол, TPS-Cl – 2,4,6-триизопропилбензолсульфохлорид.



Соединение	R	B	X
(I)	H	Ura	NH <sub>2</sub>
(II)	H	Ura	NHC(O)OCH <sub>2</sub> C <sub>6</sub> H <sub>5</sub>
(III)	H	Ade	NH <sub>2</sub>
(IV)	H	Ade	NHC(O)CF <sub>3</sub>
(V)	H	Cyt	N <sub>3</sub>
(VI*)	H	N <sup>4</sup> AcCyt	N <sub>3</sub>
(VII)	H	Thy	Cl
(VIII)	H	Thy	Br
(IX)	HP(O)OH	Thy	Cl
(X)	HP(O)OH	Thy	Br
(XI)	HP(O)OH	Cyt	N <sub>3</sub>
(XII)	HP(O)OH	Ade	NH <sub>2</sub>
(XIII)	FP(O)OH	Ade	NH <sub>2</sub>

\* -3'-O-ацетил.



Соединение	R	X
(XIV)	H	N <sub>3</sub>
(XV)	HP(O)OH	N <sub>3</sub>
(XVI)	HP(O)OH	NH <sub>2</sub>
(XVII)	FP(O)OH	N <sub>3</sub>
(XVIII)	FP(O)OH	NH <sub>2</sub>

Полученный 1-[2-(N-трифторацетил)амино-2-дезокси-β-D-рибофуранозил]аденин (IV) без очистки использовали в дальнейших превращениях.

1-(2-Хлор-2-дезокси-β-D-рибофуранозил)тимин (VII) и 1-(2-бром-2-дезокси-β-D-рибофуранозил)тимин (VIII) были получены из соответствующих 3',5'-диацетатов [6, 7] обработкой метанолом и вод-

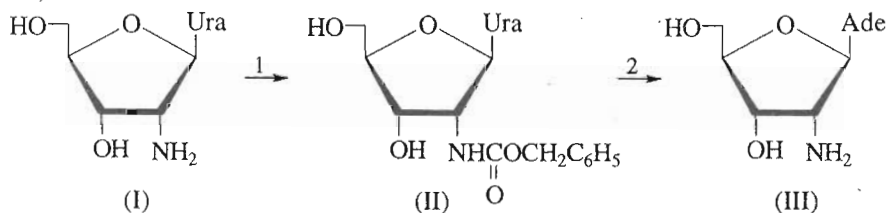
ным аммиаком с выходами 46 и 53% соответственно. Низкий выход, по-видимому, обусловлен легкостью образования O<sup>2</sup>,2'-ангидропроизводного.

Полученные нуклеозиды (IV), (VII), (VIII) и (XIV) конденсировали с пиридиниевой солью фосфористой кислоты, а нуклеозиды (IV) и (XIV) – с три-*n*-бутиламмониевой солью фторфосфорной кислоты. Реакции проводили в пиридине, в качестве конденсирующего агента использовали DCC или TPS-Cl. При синтезе Н-фосфоната (XII) и фторфосфата (XIII) по окончании реакции удаляли N-защитную группу обработкой водным раствором аммиака. Полученные 5'-Н-фосфонаты (IX), (X), (XII), (XVI) и фторфосфаты (XIII), (XVII) выделяли ионообменной хроматографией на DEAE-Toyopearl в градиенте концентрации гидрокарбоната аммония. Дополнительную очистку проводили с помощью обращенно-фазовой хроматографии на силикагеле LiChroprep RP-18.

Для синтеза Н-фосфоната 1-(2-азидо-2-дезокси-β-D-рибофуранозил)цитозина (XI) исходный нуклеозид (V), полученный по методу [8], обрабатывали последовательно 4,4'-диметокситритилхлоридом, уксусным ангидридом и уксусной кислотой. Синтезированный таким образом 4-N-ацетил-1-(3-ацетил-2-азидо-2-дезокси-β-D-рибофуранозил)цитозин (VI) конденсировали с фосфористой кислотой в пиридине в присутствии DCC. После окончания реакции защитные группы удаляли обработкой водным NH<sub>3</sub>, полученный Н-фосфонат (XI) выделяли последовательно ионообменной и обращенно-фазовой хроматографией.

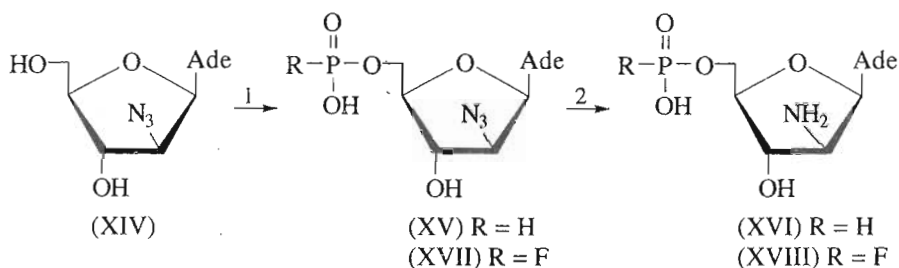
Для восстановления азидогруппы в аминогруппу в 2'-арабино-положении нуклеозидов недавно был использован 1,3-пропандитиол [9]. Применение для этой цели более доступного β-меркаптоэтанол в воде позволило нам получить 5'-Н-фосфонат и фторфосфат (XVI) и (XVIII) с удовлетворительным выходом (схема 2). Соединения (XVI) и (XVIII) выделяли с помощью обращенно-фазовой хроматографии на LiChroprep RP-18.

Все 5'-Н-фосфонаты и фторфосфаты имели характерные для исходных нуклеозидов УФ-спектры (данные не приводятся), были гомогенны согласно ТСХ- и ВЭЖХ-анализу. В масс-спектрах



Реагенты: 1 – KOH/H<sub>2</sub>O, C<sub>6</sub>H<sub>5</sub>CH<sub>2</sub>OC(O)Cl;  
2 – N<sup>6</sup>-бензоиладенин, BSA, CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>/CH<sub>3</sub>CN; NH<sub>3</sub>/MeOH.

Схема 1.



Реагенты: 1 – RPO(OH)<sub>2</sub>/Py, DCC (для R = H) или TPS-Cl (для R = F);  
 2 – HOCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>SH/H<sub>2</sub>O.

Схема 2.

наблюдали сигналы, соответствующие молекулярным ионам. Структура 5'-Н-фосфонатов и фторфосфатов (IX)–(XIII) и (XV)–(XVIII) подтверждена данными <sup>1</sup>H- и <sup>31</sup>P-ЯМР-спектроскопии. Все синтезированные 5'-Н-фосфонаты и фторфосфаты нуклеозидов (IX–XIII и XV–XVIII) были испытаны в клеточных культурах на подавление репродукции человеческого цитомегаловируса, вируса герпеса типа 2 и вируса иммунодефицита типа 1 и не показали активности при концентрации до 100 мкМ. Исследование проведено Б. Польски в Онкологическом центре Нью-Йорка, а также Б. О'Хара в компании American Cyanamid (штат Нью-Йорк).

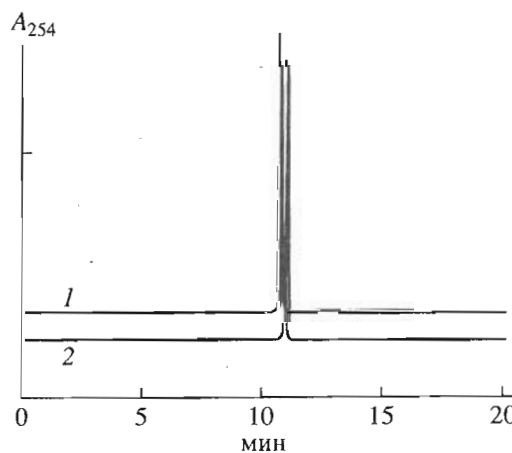
### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

**1-(2-Амино-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)урацил (I) [3] и 9-(2-азидо-2-дезоксид-β-D-арабинофуранозил)аденин (XIV) [10]** были получены по описанным методикам. В работе использовались пиридин, ацетонитрил, β-меркаптоэтанол и DMF (Aldrich); бензилоксикарбонилхлорид, 4,4'-диметокситритилхлорид, TPS-Cl и DCC (Fluka); BSA, триметилсилилтрифторметансульфонат (Merck); DEAE-Toyorearl-650M (Toyo Soda, Япония), дауэкс 50 W×8 и 1×4 (Serva), силикагель Kieselgel 60 (63–100 мкм) и LiChroprep RP-18 (25–40 мкм) (Merck). <sup>1</sup>H-ЯМР-спектры регистрировали на приборах Varian XL-100 × 15 и Bruker WM-250 (США) (рабочая частота 100 и 250 МГц соответственно), <sup>31</sup>P-ЯМР-спектры – на приборе Bruker WM-250 (101.27 МГц, внешний стандарт – 85% фосфорная кислота). Величины КССВ (J) измерены в герцах. При описании <sup>1</sup>H-ЯМР-спектров приняты следующие сокращения: с – синглет, д – дублет, т – триплет, к – квартет, м – мультиплет, ус – уширенный синглет, дд – дублет дублетов, дт – дублет триплетов. Масс-спектры в режиме FAB получены на спектрометре Kratos MS 50ТС в глицериновой матрице.

**1-[2-(N-Бензилоксикарбонил)амино-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил]урацил (II).** К раствору 0.58 г

(2 ммоль) 1-(2-амино-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)урацила (I) в воде (1.5 мл) добавляли 4 М КОН до pH 10, затем по каплям в течение 30 мин 0.52 г (3 ммоль) бензилоксикарбонилхлорида, поддерживая pH 10 добавлением 4 М КОН. Смесь интенсивно перемешивали 40 мин, затем нейтрализовали 2 М H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, промывали гексаном и эфиром. Продукт экстрагировали из воды смесью хлороформ–тетрагидрофуран (4 : 1, v/v, 6 × 5 мл). Органические фазы объединяли, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, упаривали. Выход 0.65 г (87%). <sup>1</sup>H-ЯМР-спектр (CD<sub>3</sub>OD; δ, м. д., J, Гц): 7.96д (1H, H-6, J 7.8), 7.28с (5H, Ph), 6.01д (1H, H-1', J 7.6), 5.71д (1H, H-5), 5.06с (2H, CH<sub>2</sub>Ph), 4.34м (2H, H-2', H-3'), 4.07м (1H, H-4'), 3.78м (2H, H-5'a, б). Масс-спектр, m/z: 378 [MH<sup>+</sup>].

**9-(2-Амино-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)аденин (III).** К суспензии 1.4 г (3.7 ммоль) соединения



ВЭЖХ-анализ аномеров β (1) и α (2) 2'-амино-2'-дезоксидаденозина. ВЭЖХ проводили на колонке Silasorb C<sub>18</sub> (4 × 150 мм, размер частиц сорбента 5 мкм). Элюировали соединения в линейном градиенте концентрации ацетонитрила (0 → 50% за 20 мин в 0.05 М КН<sub>2</sub>РO<sub>4</sub> и 0.05 М NH<sub>4</sub>Cl, pH 5.0). Жидкостный хроматограф – Gilson (Франция). Скорость потока 0.7 мл/мин; давление 70 бар. Время удерживания β-аномера 10.8 мин, α-аномера – 11.2 мин.

(II) и 1.48 г (6.7 ммоль) N<sup>6</sup>-бензоиладенина в 20 мл абсолютного CH<sub>3</sub>CN добавляли 5.2 мл (20 ммоль) BSA и кипятили 15 мин. К полученному раствору добавляли 0.75 мл (4.4 ммоль) триметилсилилтрифторметансульфоната. Реакционную смесь кипятили 5 ч, затем охлаждали, упаривали и добавляли 110 мл насыщенного NH<sub>3</sub>/MeOH и оставляли на 36 ч при 20°C. После упаривания остаток растворяли в 100 мл воды, промывали хлороформом (3 × 10 мл), водный раствор наносили на колонку с 90 мл дауэкса 50 (H<sup>+</sup>), которую промывали водой и 200 мл 30% этанола. Продукт элюировался в 30% водном этаноле, содержащем 1% NH<sub>3</sub>. Растворители упаривали в вакууме, нуклеозид кристаллизовали из этанола. Выход 784 мг (79%), т. пл. 195°C.

ВЭЖХ проводили на колонке (4 × 150 мм) Silasorb C<sub>18</sub> (5 мкм). Элюировали соединения в линейном градиенте концентрации ацетонитрила (0 → 50% за 20 мин в 0.05 М KН<sub>2</sub>PO<sub>4</sub> и 0.05 М NH<sub>4</sub>Cl, pH 5.0). Жидкостный хроматограф – Gilson (Франция). Скорость потока 0.7 мл/мин; давление 70 бар. Время удерживания 10.8 мин, α-аномер, полученный по [3], имел время удерживания 11.2 мин. <sup>1</sup>H-ЯМР (D<sub>2</sub>O): 8.20с, 8.05с (2H, H-8 и H-2), 5.85д (1H, H-1', J 8), 4.32м (2H, H-3', H-4'), 4.00м (1H, H-2'), 3.87м (2H, H-5'a, б). Масс-спектр, *m/z*: 267 [MН<sup>+</sup>].

**4-N-Ацетил-1-(3-О-ацетил-2-азидо-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)цитозин (VI).** К раствору 269 мг (1 ммоль) нуклеозида (V) в 10 мл пиридина прибавляли 373 мг (1.1 ммоль) 4,4'-диметокситрихлорида порциями в течение 1.5 ч. Смесь перемешивали 6 ч при 20°C, затем добавляли 3 мл воды, перемешивали 1 ч, упаривали, переупаривали с 5 мл толуола. К остатку приливали хлороформ (10 мл) и воду (10 мл), экстрагировали хлороформом (3 × 5 мл), сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, упаривали. К остатку добавляли 0.5 мл хлороформа и 5 мл гексана. Раствор декантировали, белый маслянистый осадок растворяли в 5 мл пиридина, упаривали, вновь растворяли в 5 мл пиридина, добавляли 1 мл уксусного ангидрида и оставляли на 18 ч при 20°C. Смесь упаривали, к остатку добавляли 2.4 мл уксусной кислоты и 0.6 мл воды. Через 20 мин при 20°C добавляли 5 мл *n*-бутанола и упаривали, остаток соупаривали с 5 мл бутанола и хроматографировали на колонке (2 × 20 см) с силикагелем. Элюировали 10% метанолом в хлороформе, фракции, содержащие вещество (VI), упаривали. Выход 275 мг (78%). <sup>1</sup>H-ЯМР (CDCl<sub>3</sub>): 8.04д (1H, H-6, J 7.8), 6.20д (1H, H-5), 6.05д (1H, H-1', J 4.1), 4.60м (1H, H-2'), 5.29м (1H, H-3'), 4.32м (1H, H-4'), 3.86м (2H, H-5'a, б), 2.25с (3H, NAc), 2.07с (3H, OAc). Масс-спектр, *m/z*: 354 [MН<sup>+</sup>].

**1-(2-Хлор-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)тимин (VII).** К суспензии 330 мг (1.28 ммоль) риботими-

дина в 50 мл CH<sub>3</sub>CN при кипении по каплям в течение 30 мин добавляли раствор 0.64 мл (9 ммоль) ацетилхлорида в 20 мл CH<sub>3</sub>CN, реакционную массу кипятили еще 20 мин. Раствор охлаждали, приливали 100 мл 10% водного NaHCO<sub>3</sub> и экстрагировали хлороформом (3 × 20 мл), сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, упаривали. К остатку добавляли смесь 4 мл метанола и 1 мл 25% водного NH<sub>3</sub>, через 3 ч упаривали, хроматографировали на колонке (2 × 20 см) с силикагелем. Элюировали 6% раствором этанола в хлороформе, фракции, содержащие нуклеозид (VII), упаривали. Выход 163 мг (46%). <sup>1</sup>H-ЯМР (CD<sub>3</sub>OD): 7.91к (1H, H-6, J 1), 6.15д (1H, H-1', J 6), 4.53дд (1H, H-2', J 5.5), 4.37дд (1H, H-3', J 4.5), 4.12м (1H, H-4'), 3.9дд (1H, H-5'a, J 12.8 и 2.8), 3.8дд (1H, H-5'б, J 3), 1.92д (3H, 5-Me). Масс-спектр, *m/z*: 277, 279 (3 : 1) [MН<sup>+</sup>].

**1-(2-Бром-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)тимин (VIII).** К раствору 486 мг (1.2 ммоль) 1-(3,5-ди-О-ацетил-2-бром-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)тимина, полученного как описано в работе [8], в 2 мл метанола при 4°C приливали 1 мл 25% водного NH<sub>3</sub>, через 18 ч при 4°C раствор упаривали, хроматографировали на колонке (2 × 20 см) с силикагелем. Элюировали 7% этанолом в хлороформе, фракции, содержащие нуклеозид (VIII), упаривали. Выход 204 мг (53%). <sup>1</sup>H-ЯМР (CD<sub>3</sub>OD): 7.83к (1H, H-6, J 1), 6.22д (1H, H-1', J 6), 4.55дд (1H, H-2', J 5), 4.27м (1H, H-3'), 4.12м (1H, H-4'), 3.85м (2H, H-5'a, б), 1.91д (3H, 5-Me). Масс-спектр, *m/z*: 321, 323 (1 : 1) [MН<sup>+</sup>].

**1-(5-N-Фосфонил-2-хлор-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)тимин (IX), 1-(5-N-фосфонил-2-бром-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)тимин (X) и 9-(5-N-фосфонил-2-азидо-2-дезоксид-β-D-арабинофуранозил)аденин (XV).** К раствору 0.5 ммоль соответствующего нуклеозида в 10 мл пиридина добавляли 0.7 ммоль монотрибутиламмониевой соли H<sub>3</sub>PO<sub>3</sub> в 10 мл Py и 206 мг (1 ммоль) DCC, перемешивали 24 ч при 4°C. Добавляли 50 мл воды, через 1 ч фильтровали, фильтрат наносили на колонку (2 × 12 см) DEAE-Toyopearl (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>). Элюировали в линейном градиенте концентрации 0 → 0.1 М гидрокарбоната аммония. Фракции, содержащие целевые вещества, упаривали, соупаривали с водой (3 × 10 мл). Дополнительно очищали на колонке (1 × 16 см) с силикагелем LiChroprep RP-18, элюировали водой, лиофилизировали. Выход N-фосфонатов составил (%): 34 (IX), 27 (X) и 35 (XV). <sup>1</sup>H-ЯМР (D<sub>2</sub>O) (IX): 7.81к (1H, H-6, J 1), 6.85д (1H, H-P, J 633), 6.12д (1H, H-1', J 6), 4.51дд (1H, H-2', J 5.5), 4.37дд (1H, H-3', J 4.5), 4.25м (1H, H-4'), 4.19–4.26м (2H, H-5'a, б), 1.91д (3H, 5-Me); (X): 7.85к (1H, H-6, J 1), 6.87д (1H, H-P, J 632), 6.21д (1H, H-1', J 6), 4.53дд (1H, H-2', J 5), 4.32м (1H, H-3'), 4.22м (1H, H-4'), 4.15–4.28м (2H, H-5'a, б), 1.90д (3H, 5-Me). <sup>31</sup>P-ЯМР (D<sub>2</sub>O; δ, м. д., J, Гц) (IX):

Параметры  $^1\text{H}$ - и  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектров 5'-Н-фосфонатов и фторфосфатов аденозиновых нуклеозидов ( $\text{D}_2\text{O}$ ;  $\delta$ , м. д.,  $J$ , Гц)

Соединение	$^1\text{H}$ -ЯМР							$^{31}\text{P}$ -ЯМР
	H-1'	H-3'	H-2'	H-4'	H-5'a, б	H-2, H-8	другие	
(XII)	5.87д (8)		4.05–4.34м			8.28с, 8.12с	6.82д (637)	6.7д (637)
(XIII)	5.89д (8)		4.09–4.36м			8.26с, 8.11с	–	–6.9д (934)
(XV)	6.37д (4)		4.51–4.73м		4.21–4.27м	8.31с, 8.14с	6.79д (635)	6.6д (635)
(XVI)	6.47д (6.4)	4.61м	4.13м		4.22–4.32м	8.40с, 8.22с	6.82д (642)	6.7д (642)
(XVII)	6.43д (5)		4.3–4.6м			8.29с, 8.13с	–	–7.0д (932)
(XVIII)	6.52д (6)	4.73т			4.22–4.45м	8.36с, 8.24с	–	–6.9д (933)

6.7д ( $J$  633); (X): 6.6д ( $J$  632). Масс-спектр,  $m/z$ : 341, 343 (3 : 1) [ $\text{MH}^+$ ] (IX); 385, 387 (1 : 1) [ $\text{MH}^+$ ] (X); 357 [ $\text{MH}^+$ ] (XV). Данные ЯМР-спектроскопии для соединения (XV) приведены в таблице.

**1-(5-Н-Фосфонил-2'-азидо-2-дезоксид- $\beta$ -D-рибофуранозил)цитозин (XI).** Растворяли 15 мг (48 мкмоль) соединения (VI) в 20 мл пиридина, прибавляли 20 мг (224 мкмоль)  $\text{H}_3\text{PO}_3$  и 100 мкл (420 мкмоль)  $\text{Bu}_3\text{N}$ . Смесь упаривали, вновь растворяли в 20 мл пиридина, прибавляли 60 мг (291 мкмоль) DCC, перемешивали 18 ч при 20°C, прибавляли 50 мл воды, через 1 ч фильтровали, фильтрат упаривали. К остатку приливали 15 мл 25% водного  $\text{NH}_3$ , через 18 ч упаривали, хроматографировали на колонке (2 × 12 см) с DEAE-Toyopearl ( $\text{HCO}_3^-$ ). Дальнейшая обработка – как для (IX). Выход 12 мг (75%).  $^1\text{H}$ -ЯМР ( $\text{D}_2\text{O}$ ): 8.07д (1H, H-6,  $J$  7.8), 6.84д (1H, H-P,  $J$  640), 6.22д (1H, H-5), 6.03д (1H, H-1',  $J$  4.3), 4.57дд (1H, H-3',  $J$  5.6), 4.38дд (1H, H-2'), 4.29м (1H, H-4'), 4.12–4.27м (2H, H-5'a, б),  $^{31}\text{P}$ -ЯМР ( $\text{D}_2\text{O}$ ): 7.5д ( $J$  640). Масс-спектр,  $m/z$ : 333 [ $\text{MH}^+$ ].

**9-(5-Н-Фосфонил-2-амино-2-дезоксид- $\beta$ -D-рибофуранозил)аденин (XII).** К раствору 163 мг (0.5 ммоль) нуклеозида (III) в 3 мл абсолютного DMF добавляли 1.5 мл метилового эфира трифторуксусной кислоты и перемешивали 24 ч при 20°C. Растворитель упаривали в вакууме, полученный трифторацетат (IV) растворяли в 10 мл пиридина, добавляли 0.7 ммоль трибутиламмониевой соли  $\text{H}_3\text{PO}_3$  в 10 мл пиридина и 206 мг (1 ммоль) DCC, перемешивали 24 ч при 4°C. Добавляли 50 мл воды, через 1 ч фильтровали, фильтрат упаривали. К остатку приливали 10 мл 25% водного  $\text{NH}_3$ , через 3 ч упаривали, соупаривали с водным  $\text{NH}_3$  (3 × 5 мл), растворяли в 1 мл воды и наносили на колонку (1 × 16 см) с LiChroprep RP-18, элюировали водой. Фракции, содержащие Н-фосфонат (XII), упаривали, соупаривали с водой (3 × 10 мл), лиофилизировали. Выход 61 мг (37%). Масс-спектр,  $m/z$ : 330

[ $\text{MH}^+$ ]. Данные ЯМР-спектроскопии приведены в таблице.

**9-(5-Фторфосфорил-2-амино-2-дезоксид- $\beta$ -D-рибофуранозил)аденин (XIII).** К раствору 196 мг (0.6 ммоль) нуклеозида (III) в 3 мл абсолютного DMF добавляли 1.5 мл метилового эфира трифторуксусной кислоты и перемешивали 24 ч при 20°C. Реакционную смесь упаривали, полученный нуклеозид (IV) растворяли в 10 мл пиридина и добавляли 1 мл 1 М раствора ( $\text{Bu}_3\text{NH}_2$ ) $\text{FPO}_3$  (1 ммоль) в DMF и 310 мг (1 ммоль) TPS-Cl. Через 1 ч добавляли холодную воду (10 мл), спустя 1 ч упаривали. Дальнейшая обработка – как для (XII). Выход 82 мг (39%). Масс-спектр,  $m/z$ : 348 [ $\text{MH}^+$ ]. Данные ЯМР-спектроскопии приведены в таблице.

**9-(5-Н-Фосфонил-2-амино-2'-дезоксид- $\beta$ -D-арабинофуранозил)аденин (XVI).** К раствору 21 мг (59 мкмоль) фосфоната (XV) в 1 мл воды добавляли 85 мкл  $\beta$ -меркаптоэтанола и 80 мкл 25% водного  $\text{NH}_3$ . Оставляли при комнатной температуре на ночь. Упаривали, соупаривали с водой (3 × 2 мл) и наносили на колонку (1 × 16 см) с силикагелем LiChroprep RP-18, элюировали водой, лиофилизировали. Выход 9.6 мг (46%). Масс-спектр,  $m/z$ : 330 [ $\text{MH}^+$ ]. Данные ЯМР-спектроскопии приведены в таблице.

**9-(5-Фторфосфорил-2-азидо-2-дезоксид- $\beta$ -D-арабинофуранозил)аденин (XVII).** К раствору 200 мг (0.68 ммоль) нуклеозида (XIV) в 10 мл пиридина добавляли 1 мл (1 ммоль) 1 М раствора ( $\text{Bu}_3\text{NH}_2$ ) $\text{FPO}_3$  в DMF и 310 мг (1 ммоль) TPS-Cl. Через 2 ч добавляли холодную воду (5 мл), упаривали. Дальнейшая обработка – как для (IX). Выход 96 мг (38%). Масс-спектр,  $m/z$ : 375 [ $\text{MH}^+$ ]. Данные ЯМР-спектроскопии приведены в таблице.

**9-(5-Фторфосфорил-2-амино-2-дезоксид- $\beta$ -D-арабинофуранозил)аденин (XVIII)** получен аналогично нуклеотиду (XVI), исходя из 24 мг (65 мкмоль) нуклеозида (XVII). Выход 10 мг (40%). Масс-спектр,  $m/z$ : 330 [ $\text{MH}^+$ ]. Данные ЯМР-спектроскопии приведены в таблице.

Авторы выражают благодарность Т.П. Волосюк (НПО "Витамины", Москва), предоставившей исходные соединения для синтеза нуклеозидов (VII) и (VIII).

Работа частично финансировалась из гранта Российского фонда фундаментальных исследований (№ 95-03-08142а) и гранта программы "Национальные приоритеты в медицине и здравоохранении. Вирусология" (№ 508).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Тарусова Н.Б., Хорлин А.А., Краевский А.А., Корнеева М.Н., Носик Д.Н., Круглов И.В., Галегов Г.А., Бибилашвили Р.Ш. // Молекулярн. биология. 1989. Т. 23. С. 1716–1724.
2. Карамов Э.В., Лукашев В.В., Тарусова Н.Б., Корнилова Г.В., Розова М.А., Галегов Г.А., Куханова М.К., Краевский А.А. // Молекулярн. биология. 1990. Т. 24. С. 1695–1701.
3. Imazawa M., Eckstein F. // J. Org. Chem. 1979. V. 44. P. 2039–2041.
4. Wolfrom M.L., Winkley M.W. // J. Org. Chem. 1967. V. 32. P. 1823–1827.
5. Hobbs J., Eckstein F. // J. Org. Chem. 1977. V. 42. P. 714–717.
6. Marumoto R., Honjo M. // Chem. Pharm. Bull. 1974. V. 22. P. 128–134.
7. Mansuri M.M., Starrett J.E., Wos J.A., Tortolani D.R., Brodfuehrer P.R., Howell H.G., Martin J.C. // J. Org. Chem. 1989. V. 54. P. 4780–4785.
8. Lin T.-S., Crao Y.-S., Mancini W.R. // J. Med. Chem. 1983. V. 26. P. 1691–1696.
9. Krawczyk S.H., Bernier-Rodriguez M., Nassiri M.R., Kern E.R., Wotring L.L., Drach J.C., Townsend L.B. // J. Med. Chem. 1990. V. 33. P. 3160–3169.
10. Robins M.J., Hawrelak S.D., Hernandez A.E., Wnuk S.F. // Nucleosides and Nucleotides. 1992. V. 11. P. 821–834.

## Fluorophosphates and 5'-H-Phosphonates of 2'-Modified Nucleosides

Yu. A. Sharkin, M. V. Yas'ko, A. Yu. Skoblov, and L. A. Aleksandrova

Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences,  
ul. Vavilova 32, GSP-1, Moscow, 117984 Russia

**Abstract**—A series of 5'-H-phosphonates and fluorophosphates of 2'-modified nucleosides as potential antiviral agents was synthesized. 2'-Azido-2'-deoxy- or 2'-halogen-2'-deoxyribonucleosides and 2'-azido-2'-deoxy-arabinonucleosides were coupled with phosphorous or fluorophosphoric acids using *N,N'*-dicyclohexylcarbodiimide or 2,4,6-triisopropylbenzenesulfonyl chloride. 9-(2-Amino-2-deoxy- $\beta$ -D-arabinofuranosyl)adenine 5'-H-phosphonate and fluorophosphate were synthesized by reduction of the corresponding 2'-azido derivatives with  $\beta$ -mercaptoethanol. In the case of 1-(2-amino-2-deoxy- $\beta$ -D-ribofuranosyl)uracil, the use of the *N*-benzyl-oxycarbonyl protecting group instead of the *N*-trifluoroacetyl group during the transglycosylation was shown to give mainly the  $\beta$ -anomer of 2'-amino-2'-deoxyadenosine, thus considerably facilitating the synthesis.

*Key words:* nucleosides; nucleotides, analogs.