



УДК 547.853

## АЛКИЛФОСФОНАТЫ НУКЛЕОЗИДОВ. ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ УРИДИНА С ДИХЛОРАНГИДРИДОМ ТРИТИЛФОСФОНОВОЙ КИСЛОТЫ

Шингарова И. Д., Мельник С. Я., Ярцева И. В.,  
Борисенко А. А., Преображенская М. Н.

Онкологический научный центр Академии медицинских наук СССР;

Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, Москва

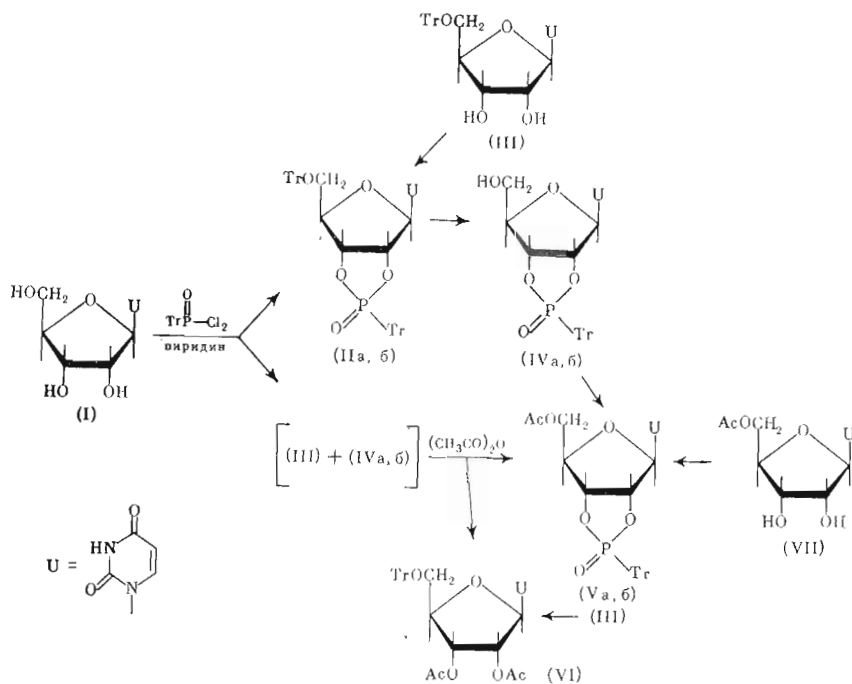
Взаимодействие уридина и его 5'-О-производных с дихлорангидридом тритилфосфоновой кислоты приводит к соответствующим диастереоизомерным по фосфору 2',3'-О-трифенилметилфосфонатам. На примере уридина показано, что происходит также разрыв связи С—Р и образование 5'-О-тритуридина и диастереоизомерных 2',3'-О-тритуридинатов 5'-О-тритуридина. Конфигурация у асимметрического атома фосфора в диастереоизомерных циклофосфонатах установлена с использованием спектроскопии ЯМР.

Алкилфосфонаты нуклеозидов представляют собой потенциальные ингибиторы обмена нуклеиновых кислот или их транспорта через клеточные мембраны. Ранее мы описали синтез диастереоизомерных по фосфору 2',3'-О-адамантилфосфонатов нуклеозидов, являющихся аналогами 2',3'-циклонуклеотидов с различной конфигурацией и конформацией фосфонового цикла [1, 2]. Было показано, что 2',3'-циклофосфонаты — основные продукты, образующиеся при взаимодействии рибонуклеозидов с дихлорангидридом 1-адамантилфосфоновой кислоты независимо от того, блокирована или нет первичная оксигруппа в 5'-положении нуклеозида. Представляло интерес исследовать, в какой мере способность к образованию 2',3'-циклофосфонатов определяется характером заместителя при атоме фосфора. Настоящее сообщение посвящено изучению взаимодействия уридина с дихлорангидридом трифенилметилфосфоновой кислоты.

Уридин (I) реагировал с дихлорангидридом тритилфосфоновой кислоты [3] в пиридине при 90° в течение 10 ч, в этих условиях в реакционной массе остается ~ 20% исходного нуклеозида. Из реакционной смеси после удаления пиридина ТСХ на силикагеле были выделены диастереоизомерные по фосфору 2',3'-О-тритуридинаты 5'-О-тритуридина (IIa) и (IIб) с суммарным выходом 12% в соотношении 1 : 2,5 и фракция, содержащая несколько веществ с близкими значениями  $R_f$ . После обработки ее уксусным ангидридом в пиридине и ТСХ на силикагеле были выделены диастереоизомерные по фосфору 2',3'-О-тритуридинаты 5'-О-ацетилуридина (Va) и (Vб) с суммарным выходом 6% в соотношении 1 : 2,5 и 2',3'-ди-О-ацетил-5'-О-тритуридин (VI) с выходом 23%. Образование 5'-О-тритуридинатов уридина в этой реакции, по-видимому, связано с легкостью разрыва связи С—Р в дихлорангидридах типа  $Ar_3C—P(O)Cl_2$  с образованием триарилкарбониевого катиона [4, 5]; взаимодействие его с гидрок-

сильной группой нуклеозида приводит к образованию триарилметилового эфира.

Структура выделенных соединений была подтверждена встречными синтезами. Взаимодействием 5'-О-тритуридина (III) [6] с дихлорангидридом тритилфосфоновой кислоты получены циклофосфонаты (IIa) и (IIб) с суммарным выходом 35% в соотношении 1 : 2,5. Ацетилирование 5'-О-тритуридина (III) дало соединение, идентичное соединению (VI). Дегритилирование каждого из фосфонатов (IIa) и (IIб) в отдельности привело к 2',3'-О-тритилфосфонатам уридина (IVa) и (IVб), которые обработкой уксусным ангидридом в пиридине были превращены в 5'-О-ацетильные производные (Va) и (Vб). При взаимодействии 5'-О-ацетилуридина (VII) [7] с дихлорангидридом тритилфосфоновой кислоты в пиридине образуется смесь фосфонатов (Va) и (Vб) с суммарным выходом 36,4% в соотношении 1 : 2,5, разделенная ТСХ на силикагеле.



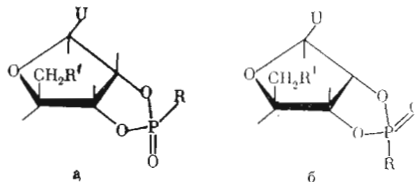
Полученные соединения изучены методами электрофореза, масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии. Циклофосфонаты (IIa), (IIб), (IVa), (IVб), (Va) и (Vб) неподвижны при электрофорезе на бумаге в буферах (1) и (2) (см. «Экспериментальную часть»). В масс-спектрах диастереоизомерных фосфонатов (Va) и (Vб) имеются пики молекулярного иона  $M^+$  с  $m/e$  574, а в масс-спектре соединения (VI) — пик  $M^+$  с  $m/e$  570, соответствующие приписываемой структуре. Все тритильные производные имеют в спектрах ЯМР характерный мультиплет ароматических протонов в области 7—7,6 м. д. (см. табл. 1). В спектрах ЯМР циклофосфонатов (IIa), (IIб) и (IVa), (IVб) сигналы протонов углеводной части представляют собой сложные мультиплеты, перекрывающиеся друг с другом, а также с сигналом протона  $H_5$  урацильного кольца. При подавлении спин-спинового взаимодействия с ядром фосфора сигналы, соответствующие протонам  $H_{2'}$  и  $H_{3'}$ , изменяются, однако определение вицинальных констант  $^3J_{\text{NH}}$  и  $^3J_{\text{NH}}$  затруднено вследствие малой неэквивалентности протонов  $H_{2'}$  и  $H_{3'}$ . Параметры спектра ЯМР соединения (VI) соответствуют его структуре. В пользу циклической структуры фосфонатов (Va) и (Vб) свидетельствует характер мультиплетности сигналов протонов  $H_{2'}$  и  $H_{3'}$ , изменяющийся при подав-

## Спектры ЯМР соединений (IIa, б), (IIIa, б), (IV) и (IVa, б)

№ соеди- нения	δ, м. д.							Растворитель, Т-ра		
	H <sub>6</sub>	H <sub>5</sub>	Tr	H <sub>1'</sub>	H <sub>2'</sub>	H <sub>3'</sub>	H <sub>4'</sub>		H <sub>5'</sub>	AcO
IIa	7,72   5,6 J <sub>6,5</sub> 8 Гц	5,6	7,2—7,6	6,0 J <sub>1', 2'</sub> 2,5 Гц	4,2—4,8	—	2,9—3,5	—	d <sub>6</sub> -DMSO, 100°	
IIб	7,72   5,6* J <sub>6,5</sub> 8 Гц	5,7	7—7,6	5,7 J <sub>1', 2'</sub> 2,5 Гц	*	5,20	2,68	2,96—3,36	—	
IIIa**	7,74   5,64 J <sub>6,5</sub> 8 Гц	5,94	7,25—7,5	5,94 J <sub>1', 2'</sub> 1,8 Гц	4,56 J <sub>2', 3'</sub> 6,8 Гц <sup>3</sup> J <sub>HP</sub> 8 Гц	4,68 J <sub>3', 4'</sub> 5,4 Гц <sup>3</sup> J <sub>HP</sub> 16 Гц	4,38 J <sub>4', 5'</sub> 3,6 Гц J <sub>4', 5''</sub> 7,1 Гц	4,30 4,40 J <sub>5', 5''</sub> 12 Гц	2,0	d <sub>6</sub> -DMSO, 20°
IVб	—	5,63*	—	4,80 J <sub>1', 2'</sub> 2,0 Гц	*	5,34	2,91	4,46	2,10	CDCl <sub>3</sub> , 20°
VI	7,8   5,4 J <sub>6,5</sub> 8 Гц	5,4	7,2—7,6	6,40 J <sub>1', 2'</sub> 4,2 Гц	5,67	—	4,23	3,29	2,08	CD <sub>3</sub> OD, 20°
IVa	7,66   5,5* J <sub>6,5</sub> 8 Гц	5,92	7,1—7,56	5,92 J <sub>1', 2'</sub> 4,5 Гц	*	*	4,46	3,0—3,6	2,0	d <sub>6</sub> -DMSO, 20°
IVб	7,6   5,62 J <sub>6,5</sub> 8 Гц	5,98	7,2—7,54	*	5,04—5,74*	—	3,0	3,26—3,66	—	d <sub>6</sub> -DMSO, 100°
IVб	7,68   5,62 J <sub>6,5</sub> 8 Гц	5,98	7,30—7,48	5,98	4,64	4,52	4,30	3,64	—	d <sub>6</sub> -DMSO, 100°

\* Сигналы перекрываются.  
\*\* В CDCl<sub>3</sub> δ<sub>H<sub>2'</sub></sub> 4,5 / м.д., δ<sub>H<sub>3'</sub></sub> 4,13 м.д.

Сопоставление величин химических сдвигов протонов фосфоланового цикла и вицинальных констант спин-спинового взаимодействия 2',3'-О-алкилфосфонатов уридина и его 5'-производных



R, R'	Изомер	δ, м.д.		J, Гц					Ссылка
		H <sub>2'</sub>	H <sub>3'</sub>	1'2'	2'3'	3'4'	2'P	3'P	
R=C <sub>10</sub> H <sub>15</sub> , R'=F	а	5,34	5,08	2,0	7,0	5,0	7,0	14	[2]
	б	5,44	5,22	2,0	6,5	3,5	3,0	6,5	
R=C(CH <sub>3</sub> ) <sub>3</sub> , R'=OH	а	5,40	5,10	2,0	7,0	4,5	7,0	12,8	[8]
	б	5,48	5,24	3,0	6,0	4,4	5,3	6,0	
R=Tr, R'=OAc	а	4,57	4,73	1,8	6,8	5,4	8,0	16	
	б	5,63	5,34	2,0	7,0	4,6	2,8	6,6	

лени спин-спинового взаимодействия с ядром фосфора. Для отнесения конфигурации при атоме фосфора в диастереоизомерных 2',3'-О-алкилфосфонатах ранее была использована зависимость химических сдвигов протонов фосфоланового цикла от ориентации группы P=O: *цис*-ориентация протонов H<sub>2'</sub> и H<sub>3'</sub> и группы P=O (*экзо*-положение группы P=O) в одном из диастереоизомеров приводит к смещению сигналов этих протонов в более слабое поле по сравнению с соответствующими сигналами другого диастереоизомера, в котором P=O находится в *транс*-положении к H<sub>2'</sub> и H<sub>3'</sub> (*эндо*-положение группы P=O) [8]. В случае тритилфосфонатов такое отнесение, по-видимому, может быть сделано с крайней осторожностью вследствие анизотропного эффекта тритильной группы. Сопоставление параметров спектров ПМР для описанных ранее диастереоизомерных 2',3'-О-адамантил-, 2',3'-О-трет-бутилфосфонатов нуклеозидов с известной конфигурацией у атома фосфора и 2',3'-О-тритилфосфонатов уридина и его 5'-производных, полученных в этой работе, показывает (табл. 2), что вицинальные константы <sup>3</sup>J<sub>НН</sub> и <sup>3</sup>J<sub>НР</sub> в ряду изомеров (а или б) близки. Сохраняется и соотношение величин <sup>3</sup>J<sub>НН</sub>, а также <sup>3</sup>J<sub>НР</sub> внутри каждой пары диастереоизомеров. Учитывая эти закономерности, можно сделать вывод, что в изомере (Va), а следовательно, в изомерах (IIa) и (IVa) протоны H<sub>2'</sub> и H<sub>3'</sub> и группа P=O имеют *транс*-ориентацию; в изомере (Vб), а следовательно, в (IIб) и (IVб) протоны H<sub>2'</sub> и H<sub>3'</sub> и группа P=O *цис*-ориентированы. Это согласуется со значениями величин химических сдвигов: сигналы протонов фосфоланового цикла изомера (Va) находятся в более сильном поле по сравнению с таковыми для изомера (Vб).

На примере реакции 5'-О-тритуридина (III) с дихлорангидридом тритилфосфоновой кислоты мы исследовали состав реакционной смеси, остающейся на хроматографической пластине после отделения циклофосфонатов (IIa) и (IIб). При этом было выделено 16% исходного 5'-тритуридина (III), а из стартовой зоны — смесь соединений, которым на основании данных электрофореза на бумаге и УФ-спектров мы приписали структуру 2'(3')-О-тритилфосфоната 5'-О-тритуридина [E<sub>УМР</sub> 1/2 в буфере (1), E<sub>УМР</sub> 1/3 в буфере (2), λ<sub>макс</sub> 262 нм] и 2'(3')-фосфата 5'-О-тритуридина [E<sub>УМР</sub> 1 в буфере (1), E<sub>УМР</sub> 2/3 в буфере (2), λ<sub>макс</sub> 262 нм].

Таким образом, дихлорангидрид тритилфосфоновой кислоты, как и дихлорангидрид адамантилфосфоновой кислоты, реагирует с нуклеози-

дом с образованием преимущественно пятичленных циклофосфонатов. Можно высказать предположение, что высокая реакционная способность дихлорангидридов разветвленных алкилфосфоновых кислот по отношению к 1,2-диолам связана с уменьшением величины валентного угла  $X - P - X$  в соединениях такого типа.

### Экспериментальная часть

Спектры ЯМР соединений (Va) в  $CDCl_3$ , (Vб) в  $d_6$ -DMSO, (VI) в  $CD_3OD$ , (IVa) и (IVб) записаны на приборе Varian XL-100 (США), соединений (IIa), (IIб) и (VI) в  $d_6$ -DMSO — на приборе Jeol JNM-MH-100 (Япония), соединения (Va) в  $d_6$ -DMSO — на приборе Bruker WH-360 (ФРГ), внутренний стандарт — тетраметилсилан. УФ-спектры записаны на приборе Unicam SP-800 (Англия) в спирте. Масс-спектры получены на приборе LKB-9000 (Швеция) при непосредственном введении вещества в ионный источник при температуре ионизационной камеры 90—140° и энергии ионизации 70 эВ. Электрофорез на бумаге проводили на приборе для горизонтального электрофореза Labor OE-201 (Венгрия) при напряжении 600 В в течение 2—3 ч в триэтиламонийбикарбонатном буфере, рН 7,6 (1), и боратном буфере, рН 9,2 (2). Для аналитической ТСХ использовали силуфол УФ-254 (Kavalier, ЧССР). Препаративную ТСХ проводили на пластинках (20 × 20 см) с силикагелем ЛСЛ<sub>2,54</sub> 5—40 мкм (Chemapol, ЧССР) при толщине слоя 1 мм в системах: хлороформ — метанол, 10 : 1 (А), 20 : 1 (Б), 30 : 1 (В).

*2',3'-О-Тритилфосфонаты 5'-О-тритуридина (IIa) и (IIб), 2',3'-О-тримилфосфонаты 5'-О-ацетилуридина (Va) и (Vб), 2',3'-ди-О-ацетил-5'-О-тритуридин (VI) из уридина (I).* К раствору 1,5 г уридина (I) в 20 мл безводного пиридина прибавляли 2,45 г дихлорангидрида тритилфосфоновой кислоты и нагревали 10 ч при 90°. Растворитель отгоняли в вакууме, прибавляя толуол (4 × 30 мл), остаток хроматографировали в системе А. Из зоны с большей подвижностью выделяли фосфонат (IIa). Выход 0,17 г (3,5%), т. пл. 159—161° (из хлороформа),  $R_f$  0,35 (В).

Найдено, %: P 3,33.  $C_{47}H_{39}N_2O_7P \cdot \frac{1}{4}CHCl_3$ . Вычислено, %: P 3,85.

Из средней зоны выделяли фосфонат (IIб). Выход 0,39 г (8,5%), т. пл. 181° (из хлороформа, разл.),  $R_f$  0,29 (В).

Найдено, %: C 70,60; H 5,45; Cl 3,16; P 4,46.  $C_{47}H_{39}N_2O_7 \cdot \frac{1}{4}CHCl_3$ . Вычислено, %: C 70,53; H 4,92; Cl 3,30; P 3,85.

Из нижней зоны выделяли 0,7 г смеси веществ, растворяли в 5 мл безводного пиридина, прибавляли 1 мл уксусного ангидрида и оставляли на ночь при 20—22°. Раствор упаривали в вакууме, прибавляя толуол (3 × 20 мл), остаток хроматографировали в системе Б. Из зоны с большей подвижностью выделяли соединение (VI). Выход 0,66 г (23%),  $R_f$  0,73 (В),  $M^+$  570.

Найдено, %: C 64,31; H 5,38.  $C_{32}H_{30}N_2O_8 \cdot \frac{1}{4}CHCl_3$ . Вычислено, %: C 64,50; H 5,07.

Из средней зоны выделяли фосфонат (Va). Выход 0,05 г (1,5%), т. пл. 250—252° (из хлороформа),  $R_f$  0,56 (В),  $M^+$  574.

Найдено: %: C 60,01; H 4,80; Cl 4,08; P 5,68.  $C_{30}H_{27}N_2O_8P \cdot \frac{1}{4}CHCl_3$ . Вычислено, %: C 60,11; H 4,54; Cl 4,39; P 5,10.

Из нижней зоны выделяли фосфонат (Vб). Выход 0,15 г (4,5%), т. пл. 151° (из хлороформа, разл.),  $R_f$  0,35 (В),  $M^+$  574.

Найдено, %: C 59,91; H 4,88; P 5,81.  $C_{30}H_{27}N_2O_8P \cdot \frac{1}{4}CHCl_3$ . Вычислено, %: C 60,11; H 4,54; Cl 4,39; P 5,10.

*2',3'-О-Тритилфосфонаты уридина (IVa) и (IVб).* 0,13 г соединения (IIa) растворяли в 0,5 мл 90% трифторуксусной кислоты, через 5 мин растворитель упаривали в вакууме, прибавляя метанол, остаток хроматографировали в системе А. Получали фосфонат (IVa). Выход 0,07 г (65%), т. пл.

256—257° (из метанола). Аналогично из соединения (IIб) получали фосфонат (IVб). Выход 64%, т. пл. 217° (из хлороформа, разл.).

*2',3'-O-Тритилфосфонаты 5'-O-тритуридина (IIa) и (IIб) из 5'-O-тритуридина (III).* К раствору 1 г соединения (III) в 15 мл безводного пиридина прибавляли 0,89 г дихлорангидрида тритилфосфоновой кислоты и нагревали 18 ч при 100°. Растворитель упаривали в вакууме, прибавляя толуол (4 × 30 мл), остаток хроматографировали в системе Б. Получали 0,13 г (8,65%) фосфоната (IIa) и 0,42 г (26,4%) фосфоната (IIб).

*2',3'-O-Тритилфосфонаты 5'-O-ацетилируридина (IVa) и (IVб) из 5'-O-ацетилируридина (VII).* Смесь 0,7 г производного (VII) [7] и 0,98 г дихлорангидрида тритилфосфоновой кислоты в 9 мл безводного пиридина нагревали 7 ч при 80°. Растворитель отгоняли в вакууме, прибавляя толуол (3 × 30 мл), остаток хроматографировали в системе Б. Получали 0,15 г (10,7%) фосфоната (Va) и 0,36 г (25,7%) фосфоната (Vб).

*2',3'-Ди-O-ацетил-5'-O-тритуридин (VI)* получали с количественным выходом ацетилированием 5'-O-тритуридина (III) [6] смесью укусуного ангидрида и пиридина при 20—22°.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Melnik S. Ya., Nedorezova T. P., Preobrazhenskaya M. N. (1976) *J. Carb. Nucleosides, Nucleotides*, 3, 129—147.
2. Преображенская М. Н., Мельник С. Я., Олейник Д. М., Шепелева Е. С., Турчин К. Ф., Санин П. И. (1976) *Биоорг. химия*, 2, 627—631.
3. Hardy D. V. N., Hatt H. H. (1952) *J. Chem. Soc.*, 3778—3780.
4. Hatt H. H. (1929) *J. Chem. Soc.*, 2412—2422.
5. Арбузов А. Е., Никаноров К. В. (1947) *Ж. общ. химии*, 17, 2129—2148.
6. Tipson R. S. (1970) in *Synth. Proc. Nucleic Acid Chem.* (Zorbach W. W., Tipson R. S., eds.), vol. 1, pp. 441—442, John Wiley and Sons, Inc.
7. Brown D. M., Todd A., Varadarajan S. (1956) *J. Chem. Soc.*, 2388—2393.
8. Shingarova I. D., Melnik S. Ya., Preobrazhenskaya M. N. (1977) *Carb. Res.*, in press.

Поступила в редакцию  
22.IV.1977

#### NUCLEOSIDE ALKYLPHOSPHONATES. THE INTERACTION OF URIDINE WITH TRITYLPHOSPHONODICHLORIDE

SHINGAROVA I. D., MELNIK S. Ya., YARTSEVA I. V.,  
BORISENKO A. A., PREOBRAZHENSKAYA M. N.

*Cancer Research Center, Academy of Medical Sciences  
of the USSR, M. V. Lomonosov State University, Moscow*

The interaction of uridine and its 5'-derivatives with tritylphosphonodichloride gave the appropriate diastereomeric, in respect to phosphorus, 2',3'-O-tritylphosphonates. It was shown with uridine that the cleavage of C—P bond also takes place and as a result 5'-O-trityluridine<sub>1</sub> and diastereomeric 5'-O-trityluridine 2',2'-O-tritylphosphonates are formed. The configuration at asymmetric phosphorus atom in diastereomeric tсyclophosphonates was ascertained by NMR.