



УДК 547.963.32.07

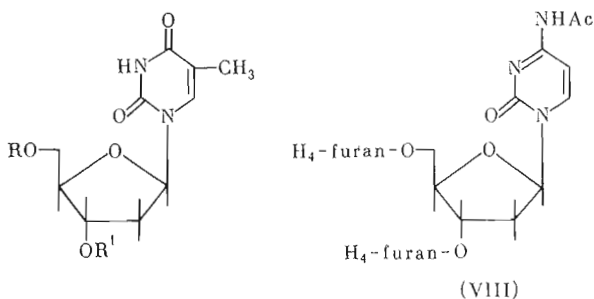
## О-ТЕТРАГИДРОФУРАНИЛЬНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ТИМИДИНА И 2'-ДЕЗОКСИЦИТИДИНА

*Чкаников Н. Д., Белицкий Г. А., Коляди А. Ю.,  
Киселева М. Г., Хитрово И. А., Преображенская М. Н.*

*Онкологический научный центр Академии медицинских наук СССР, Москва*

При взаимодействии тимидина с 2,3-дигидрофураном в присутствии *n*-толуол-сульфокислоты в зависимости от соотношения реагентов получены 5'- и 3'-О-(2-тетрагидрофуранил) тимидины или 3',5'-ди-О-(2-тетрагидрофуранил) тимидин. Подобным путем из 2'-дезоксидеокси-N-ацетилцитидина получен 2'-дезоксидеокси-3',5'-ди-О-(2-тетрагидрофуранил)-N-ацетилцитидин. 3'-О-(2-тетрагидрофуранил) тимидин получен также избирательным введением пальмитоильной группы в 5'-положение тимидина, введением остатка тетрагидрофурана в положение 3' и последующим дезацилированием. О-Тетрагидрофуранильные производные изучались как латентные формы соответствующих дезокси-нуклеозидов. Проведена инкубация О-тетрагидрофуранильных производных с микросомами, выделенными из печени крыс. Показано, что под действием микросомальных ферментов 3',5'-ди-О-(2-тетрагидрофуранил) тимидин превращается в 5'-О-(2-тетрагидрофуранил) тимидин.

В связи с развитием синтетической химии нуклеозидов, нуклеотидов и олигонуклеотидов остается весьма актуальной проблема поиска новых защитных групп гидроксильных углеводного остатка. В химии нуклеозидов широко применяется тетрагидропиридинильная защитная группа, которая вводится при действии 2,3-дигидропирана в присутствии минеральных кислот [1]. Тетрагидрофуранильные производные нуклеозидов до настоящего времени не были получены. Казалось интересным синтезировать эти соединения из доступного 2,3-дигидрофурана и изучить их свойства (схема).



- (I) R=H<sub>4</sub> furan-; R'=H H<sub>4</sub> furan-— тетрагидрофуранил
- (II) R=H; R'=H<sub>4</sub> furan-
- (III) R=H<sub>4</sub> furan-; R'=Ac
- (IV) R=H; R'=Ac
- (V) R=C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>CO-; R'=H
- (VI) R=C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>CO-; R'=H<sub>4</sub> furan-
- (VII) R=R'=H<sub>4</sub> furan-

О-Тетрагидрофуранильные производные нуклеозидов и дезоксинуклеозидов интересны также с биофармакологической точки зрения. Известно, что противопухолевый препарат фторафур — 1-(2-тетрагидрофуранил)-5-фторурацил — под действием микросомальных неспецифических оксидаз подвергается окислению в тетрагидрофурановой части молекулы. Окисление сопровождается разрывом псевдогликозидной связи, в результате чего образуется свободный 5-фторурацил. Этот процесс обеспечивает длительную циркуляцию 5-фторурацила в тканях [2, 3]. Можно ожидать, что О-тетрагидрофуранильные производные нуклеозидов (метаболитов или антиметаболитов) также окажутся субстратами неспецифических оксидаз. В таком случае эти производные можно рассматривать как латентные формы нуклеозидов. Первым этапом изучения О-тетрагидрофуранильных производных дезоксинуклеозидов является их превращение под действием неспецифических оксидаз.

При взаимодействии тимидина с 2,3-дигидрофураном в присутствии *n*-толуолсульфокислоты в диметилформамиде (ДМФА) при 20° С получены 5'-О-(2-тетрагидрофуранил)тимидин (I) и 3'-О-(2-тетрагидрофуранил)тимидин (II), которые выделены на колонке с силикагелем с выходами 43 и 13% соответственно. Для установления положения заместителя в производном (I) его ацетилировали уксусным ангидридом в пиридине, полученное О-ацетильное производное (III) обработали дауэксом 50 (H<sup>+</sup>) в метаноле и получили 3'-О-ацетилтимидин (IV), строение которого было подтверждено сравнением с заведомым образцом [4].

Был осуществлен направленный синтез 3'-О-тетрагидрофуранилтимидина (II). Известно, что взаимодействие дезоксинуклеозидов с ангидридами высших жирных кислот приводит с высокими выходами к 5'-О-ацилированным нуклеозидам [5]. При взаимодействии тимидина с хлорангидридом пальмитиновой кислоты в пиридине при 20° С получен 5'-О-пальмитоилтимидин (V), выделенный с выходом 70%. При обработке последнего 2,3-дигидрофураном образуется 3'-О-(2-тетрагидрофуранил)-5'-О-пальмитоилтимидин (VI). Его без выделения дезацилировали 0,1 н. раствором метилата натрия в метаноле и получали 3'-О-(2-тетрагидрофуранил)тимидин (II) с выходом 40%.

Увеличение относительных количеств вводимых в реакцию с тимидином 2,3-дигидрофурана и *n*-толуолсульфокислоты приводит к образованию 3',5'-ди-О-(2-тетрагидрофуранил)тимидина (VII), который был выделен с выходом 73%. Аналогично взаимодействие 2'-дезоксидезокси-N-ацетилцитидина [6] с избытком 2,3-дигидрофурана в ДМФА в присутствии HCl дало 2'-дезоксидезокси-3',5'-ди-О-(2-тетрагидрофуранил)-N-ацетилцитидин (VIII), который был выделен хроматографией на колонке с силикагелем с выходом 64%.

В спектрах ПМР полученных соединений наблюдаются сигналы, принадлежащие протонам исходных нуклеозидов, а также три группы сигналов остатка тетрагидрофурана. Сумма интегральных интенсивностей сигналов в спектрах соединений (I), (II), (VII), (VIII) находится в соответствии с количеством протонов в молекулах. Полученные соединения представляют собой изомерные смеси *R*- и *S*-тетрагидрофуранильных производных, поэтому сигналы в спектрах ПМР несколько уширены, особенно для C6-H протонов. Сигналы C6-H 5'-О-замещенных тимидинов (I), (VII) и дезоксицитидина (VIII) смещены в сильное поле по сравнению с сигналами соответствующих 5'-О-незамещенных дезоксинуклеозидов (см. таблицу). Эти результаты находятся в соответствии с литературными данными по чувствительности химического сдвига C6-H к наличию заместителя при 5'-С-О [7]. Максимумы в УФ-спектрах соединений (I), (II), (V), (VII), (VIII) совпадают с максимумами исходных нуклеозидов.

Тетрагидрофуранильная защитная группа снимается в мягких условиях дауэксом 50 (H<sup>+</sup>) или при pH 5 в воде, что позволяет ей успешно конкурировать с тетрагидрофуранильной защитной группой.

Соединение	Химические сдвиги ( $\delta$ , м. д.) 6-Н тимидина, N-ацетилдезокситидина и их O-тетрагидрофуранильных производных (в $CD_3OD$ , 30° C)	Соединение	Химические сдвиги ( $\delta$ , м. д.) 6-Н тимидина, N-ацетилдезокситидина и их O-тетрагидрофуранильных производных (в $CD_3OD$ , 30° C)
(I)	764–7,74 *	Тимидин	7,76
(VII)	7,60–7,76	(VIII)	8,32–8,48 *
(II)	7,74–7,84	N-Ацетил-2'-дезокситидин	8,47

\* В спектрах соединений (I) и (VIII) для протонов 6-Н отчетливо видны сигналы по крайней мере двух диастереомеров.

Была проведена инкубация тетрагидрофуранильных производных (I), (II), (VII), (VIII) с микросомами, выделенными из печени крыс. У части животных синтез ферментативного белка (цитохрома P-450) был предварительно индуцирован введением фенобарбитала [8]. Все соединения оказались стабильными при инкубации в смеси, содержащей все компоненты, кроме кофактора NADP, необходимого для функционирования цитохрома P-450. После 5-минутной инкубации 3',5'-ди-O-(2-тетрагидрофуранил)тимидина (VII) с микросомами в присутствии NADP в смеси исчезает соединение (VII) и появляется продукт, соответствующий по своей хроматографической подвижности на силуфол 5'-O-(2-тетрагидрофуранил)тимидину (I). Хроматографическая картина одинакова и в случае микросом, полученных от крыс с наведенным синтезом цитохрома P-450, и в случае микросом, полученных от контрольных крыс. При инкубации соединений (I), (II), (VIII) продуктов их биотрансформации не было обнаружено. Однако нельзя исключить возможности биотрансформации этих производных в изученных условиях со скоростями, значительно меньшими, чем у соединения (VII). Таким образом, можно сделать вывод о высоком сродстве дизамещенного тимидина (VII) к системе микросомальных неспецифических оксидаз.

### Экспериментальная часть

В работе использованы тимидин, 2'-дезокситидин и NADP (Reanal, Венгрия), 2,3-дигидрофуран отечественного производства. Для ТСХ применяли силуфол UV<sub>254</sub>, колоночную хроматографию проводили на силикагеле марки Л (Сметарол, СССР). Использованы системы растворителей: четыреххлористый углерод – ацетон, 1:1 (А), 2:3 (Б), 3:2 (В); хлороформ – метанол, 30:1 (Г), 20:1 (Д); этилацетат (Е). Спектры ПМР сняты на приборе JNM-MH-100 (Япония) при рабочей частоте 100 МГц и температуре 30° С, если не указано особо; внутренний стандарт – тетраметилсилан. Масс-спектр записан на спектрометре МАТ-311 (США) при непосредственном введении образца в ионный источник; температура ионизационной камеры 85° С, энергия ионизации 70 эВ. УФ-спектры записаны на регистрирующем спектрофотометре Unicam SP-800 (Англия) в спирте. Микросомы выделяли на центрифуге Sorvall ARC-1 (США) при 105000g в 11,5% растворе KCl.

5'-O-(2-Тетрагидрофуранил)тимидин (I) и 3'-O-(2-тетрагидрофуранил)тимидин (II). К раствору 1 г тимидина и 10 мг *n*-толуолсульфокислоты в 5-мл безводного ДМФА добавляли по каплям при перемешивании раствор 0,7 мл 2,3-дигидрофурана в 2,8 мл ДМФА в течение 30 мин при 20° С, затем добавляли 1,5 мл триэтиламина, растворитель и избыток триэтиламина удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем в системе Г. Получали 550 мг (42,7%) аморфного соединения (I),  $R_f$  0,19(А),  $\lambda_{max}$  266 нм,  $lg \epsilon$  3,95. Спектр ПМР в  $CD_3OD$ ,  $\delta$ , м.д.: 7,74–7,64 (6-Н); 6,42–6,16 (1'-Н), 5,14 (2''-Н); 4,44–3,40 (3'-Н, 4'-Н,

5'-2Н, 5''-2Н); 2,24—1,70 (2'-2Н, 3''-2Н, 4''-2Н, CH<sub>3</sub>). Найдено, %: С 53,94; Н 6,74; N 9,17. С<sub>14</sub>H<sub>20</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>. Вычислено, %: С 53,84; Н 6,41; N 8,97. Получили также 170 мг (13,2%) соединения (II), R<sub>f</sub> 0,24 (А), λ<sub>макс</sub> 266 нм, lg ε 3,95, т. пл. 140—155° С (из этилацетата). Спектр ПМР в CD<sub>3</sub>OD, δ, м.д.: 7,84—7,74 (6-Н); 6,19 (1'-Н); 5,24 (2''-Н); 4,60—3,70 (2'-Н, 4'-Н, 5'-2Н, 5''-2Н); 2,40—1,70 (2'-2Н, 3''-2Н, 4''-2Н, CH<sub>3</sub>). Найдено, %: С 53,73; Н 6,68; N 8,95.

*5'-О-Пальмитоилтимидин (V)*. К раствору 2,5 г тимидина в 50 мл сухого пиридина добавляли 3,1 г хлорагидрида пальмитиновой кислоты и оставляли при 20° С на 16 ч, затем выливали в 3 л ледяной воды. Выпавший осадок отфильтровывали, перекристаллизовывали из этилацетата, получали 3,5 г (70,5%) соединения (V), R<sub>f</sub> 0,52 (В), т.пл. 139—142° С, [α]<sub>D</sub><sup>20</sup> +13,5° (с 0,4; пиридин), λ<sub>макс</sub> 266 нм, lg ε 3,97. Спектр ПМР в CDCl<sub>3</sub>+DMCO-d<sub>6</sub>, 50° С, δ, м.д.: 7,38 (6-Н); 6,38 (1'-Н); 4,44—4,00 (3'-Н, 4'-Н, 5'-2Н); 2,48—2,22 (2'-2Н); 1,90 (CH<sub>3</sub>); 1,40—0,80 (C<sub>15</sub>H<sub>31</sub>COO-). Найдено, %: С 64,73; Н 9,24; N 5,79. С<sub>26</sub>H<sub>44</sub>N<sub>2</sub>O<sub>6</sub>. Вычислено, %: С 64,97; Н 9,23; N 5,83.

*3'-О-(2-Тетрагидрофуранил) тимидин (II)*. К раствору 500 мг пальмитонилтимидина (V) и 40 мг *n*-толуолсульфокислоты в 3 мл безводного ДМФА добавляли при перемешивании 1,25 мл 2,3-дигидрофурана в течение 30 мин при 20° С, затем добавляли 1 мл триэтиламина, избыток которого удаляли в вакууме, разбавляли 50 мл хлороформа, промывали водой и упаривали в вакууме. Сухой остаток супендировали в 25 мл 0,1 н. метилата натрия в метаноле и оставляли при перемешивании на 3 ч при 20° С. Реакционную смесь нейтрализовали 0,5 н. HCl до pH 7, растворители удаляли в вакууме, остаток растворяли в 50 мл хлороформа и экстрагировали 50 мл 0,1 н. NaOH. Водный раствор нейтрализовали 0,5 н. HCl до pH 7 и экстрагировали 150 мл хлороформа, растворитель удаляли в вакууме. Остаток растворяли в 5 мл метанола и обрабатывали 0,5 мл дауэкса 1×2 (OH<sup>-</sup>) в течение 30 мин. Смола отфильтровывали, промывали металлом, растворитель удаляли, получали 130 мг (40,0%) аморфного соединения (II).

*3', 5'-Ди-О-(2-тетрагидрофуранил) тимидин (VII)*. К раствору 1 г тимидина и 60 мг *n*-толуолсульфокислоты в 5 мл безводного ДМФА добавляли при перемешивании 3 мл 2,3-дигидрофурана при 20° С в течение 30 мин, затем добавляли 2 мл триэтиламина, избыток которого удаляли в вакууме, разбавляли 50 мл хлороформа, промывали водой и экстрагировали 150 мл 0,1 н. NaOH. Водный раствор нейтрализовали 0,5 н. HCl и экстрагировали 100 мл хлороформа. Хлороформный экстракт сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, растворитель удаляли в вакууме. Получали 1,15 г (72,9%) соединения (VII), R<sub>f</sub> 0,59 (А). После кристаллизации из эфира т.пл. 130—148° С, λ<sub>макс</sub> 266 нм, lg ε 3,97. Спектр ПМР в CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д.: 9,76 (N-Н); 7,60—7,40 (6-Н); 6,38—6,14 (1'-Н); 5,13 (2''-2Н); 4,40—3,40 (3'-Н, 4'-Н, 5'-2Н, 5''-4Н); 2,60—1,60 (2'-2Н, 3''-4Н, 4''-4Н, CH<sub>3</sub>). Масс-спектр, *m/e*: 382 (M<sup>+</sup>), 314 (M<sup>+</sup> — тетрагидрофуранил), 257 (M<sup>+</sup> — тимидил), 239 (M<sup>+</sup> — 2-тетрагидрофуранил-Н). Найдено, %: С 56,51; Н 6,90; N 7,40. С<sub>15</sub>H<sub>26</sub>N<sub>2</sub>O<sub>7</sub>. Вычислено, %: С 56,53; Н 6,85; N 7,33.

*2'-Дезокси-3',5'-ди-О-(2-тетрагидрофуранил)-N-ацетилцитидин (VIII)*. Растворяли 300 мг 2'-дезокси-N-ацетилцитидина в 3 мл сухого ДМФА, охлаждали до 0° С, пропускали HCl в течение 5 мин, добавляли по каплям 1 мл 2,3-дигидрофурана и оставляли при 20° С на 15 мин, затем добавляли 2 мл триэтиламина. Растворитель и избыток триэтиламина удаляли в вакууме. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, которую промывали сначала системой Г, затем Д. Получали 290 мг (63,5%) аморфного соединения (VIII), R<sub>f</sub> 0,45 (Б), λ<sub>макс</sub> (lg ε): 246 (4,10); 298 (3,80). Спектр ПМР в CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д.: 10,48 (N-Н); 8,40—8,24 (6-Н); 7,40 (5-Н); 6,30—6,10 (1'-Н); 5,16 (2''-2Н); 4,40—3,40 (3'-Н, 4'-Н, 5'-2Н, 5''-4Н); 3,00—1,60 (2'-2Н, N-Ас, 3''-4Н, 4''-4Н). Найдено, %: С 55,89; Н 6,85; N 10,30. С<sub>19</sub>H<sub>27</sub>N<sub>3</sub>O<sub>7</sub>. Вычислено, %: С 55,73; Н 6,65; N 10,26.

3'-O-Ацетилгтимидин (IV). К раствору 150 мг соединения (I) в 5 мл абс. пиридина добавляли при 20°С 2,5 мл уксусного ангидрида и через 16 ч 10 мл этанола, оставляли на 30 мин, растворитель удаляли в вакууме. Реакционную смесь растворяли в 5 мл метанола, добавляли 3 мл дауэкса 50 (H<sup>+</sup>) и оставляли при перемешивании на 8 ч при 20°С. Смолу отфильтровывали, растворители удаляли и при переосаждении этилацетатом из ацетона получали 100 мг (73,5%) соединения (IV), т.пл. 170–172°С (лит. 176–177°С [4]).

Инкубация тетрагидрофуранильных производных (I), (II), (VII), (VIII) с микросомами. Микросомы выделяли из печени самцов крыс линии Вистар. Одной группе животных вводили внутривенно натриевую соль фенобарбитала по 70 мг/кг в течение 4 дней подряд. Спустя 24 ч после последнего введения крыс забивали обескровливанием, микросомы из гомогенатов печени выделяли ультрацентрифугированием. Инкубацию проводили при 37°С в 50 мМ фосфатном буфере при pH 7,4, содержащем 1 мМ NADP, 3 мМ MgCl<sub>2</sub> и 0,5 мг/мл микросомального белка. Объем инкубационной смеси составил 50 мл. Производные (I), (II), (VII), (VIII) добавляли в виде метанольных растворов или растворов натриевых солей (pH 9) из расчета 0,02 мг на 1 мл инкубационной смеси. По окончании инкубации смесь экстрагировали последовательно 50 мл этилацетата и 50 мл хлороформа. Экстракты объединяли, растворители удаляли, остатки экстрагировали 1 мл ацетона. Водные фазы упаривали, остатки экстрагировали 20 мл метанола, метанольные растворы упаривали до объема 1 мл. Ацетоновые и метанольные экстракты исследовали методом ТСХ (продукты идентифицировали по поглощению в УФ-свете) в системе А. Идентичность продукта биотрансформации (VII) с (I) была подтверждена также в системе Е.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Рис К. Б. (1976) в кн.: Защитные группы в неорганической химии (Макоми Дж., ред.), с. 104, «Мир», М.
2. Benvenuto J. A., Liehr J. C., Winkler T., Farquhar D., Caprioli R. M., Loo T. L. (1979) *Cancer Res.*, **39**, 3199–3201.
3. Майрен Д. В., Урбанович Э. Л., Гилев А. П., Бауман В. Г., Хагн Х. Б., Тауриньш В. Э., Белоусова А. К., Жук Р. А. (1977) в кн.: Экспериментальная и клиническая фармакотерапия (Лидак М. Ю., ред.), вып. 7, с. 44, «Зинатне», Рига.
4. Verheyden J. P. H., Moffatt J. J. (1970) in: *Synth. Proc. Nucleic Acids Chem.* (Zorbach W. W., Tipson R. S., eds), vol. 1, p. 383, Wiley and Sons, Inc.
5. Ishida T., Akiyama M., Nishimura D., Hayashi H., Sakurai Y., Tsukagoshi S. Пат. США № 4097663, 27.06.78.
6. Bleaney R. S., Jones A. S., Walker R. T. (1975) *Tetrahedron*, **31**, 2423–2425.
7. Zemlička J., Horwitz J. P. (1975) *J. Amer. Chem. Soc.*, **97**, 4089–4095.
8. Gillette J. R. (1963) *Progr. Drug Res.*, **6**, 11–73.

Поступила в редакцию  
8.XII.1979

#### O-TETRAHYDROFURANYL DERIVATIVES OF THYMIDINE AND 2'-DEOXYCYTIDINE

CHKANIKOV N. D., BELITSKY G. A., KOLYADA A. Yu., KISELEVA M. G.,  
KHITROVO I. A., PREOBRAZHENSKAYA M. N.

*Cancer Research Center Academy of Medical Sciences  
of the U.S.S.R., Moscow*

By reacting thymidine with 2,3-dihydrofuran in the presence of *p*-toluenesulphonic acid, depending on the ratio of the reaction components 5'- and 3'-O-(2-tetrahydrofuran-yl)thymidines or 3',5'-di-O-(2-tetrahydrofuran-yl)thymidine were obtained. In a similar way 2'-deoxy-3',5'-O-(2-tetrahydrofuran-yl)-N-acetylcytidine was obtained from 2-deoxy-N-acetylcytidine. 3'-O-(2-tetrahydrofuran-yl)thymidine was also synthesized by selective substitution of 5'-hydroxy group for palmitoyl residue, by introduction of tetrahydrofuran-yl residue of 3'-position and subsequent deacylation. O-Tetrahydrofuran-yl compounds were investigated as depot forms of corresponding deoxynucleosides. Incubation of di- and mono-tetrahydrofuran-yl nucleosides with rat liver microsomes demonstrated that the microsomal enzymes transform 3',5'-di-O-(2-tetrahydrofuran-yl)thymidine into 5'-O-(2-tetrahydrofuran-yl)thymidine.