

Г.Д. Гунгарова
аспирант,
А.И. Давыдова
студент группы БС-69,
Ю.Г. Кириллова
ассистент,
В.И. Швец
академик РАМН
кафедра Биотехнологии
МИТХТ им. М.В. Ломоносова

СИНТЕЗ ПУРИНОВЫХ АНАЛОГОВ 2'-ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИДОВ: 2',3'-ДИДЕЗОКСИАДЕНОЗИНА И 2',3'-ДИДЕЗОКСИГУАНОЗИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ТИОГЛИКОЗИДОВ

УДК 547.857.5'455.466'16

ВВЕДЕНИЕ.

Аналоги 2'-дезоксинуклеозидов являются важным классом медицинских агентов, проявляя антиопухолевую и антивирусную активность. Подобные соединения широко используются в терапии вирусных заболеваний, в частности ВИЧ-инфекций, ингибируя синтез вирусной ДНК. В связи с этим прямой синтез аналогов 2'-дезоксинуклеозидов по-прежнему остается актуальной задачей. Широко используемым синтетическим подходом для получения нуклеозидов и их аналогов является модификация силильного метода. Полярные и малорастворимые гетероциклические основания под действием силилирующего агента превращают в липофильные, термически стабильные бис(силилированные) основания, которые затем вводят в реакцию конденсации с остатками замещенной рибозы в присутствии активирующего

агента. В ходе реакции образования гликозидной связи наличие аномерного атома углерода в рибофуранозном кольце обуславливает получение смеси α - и β -аномеров. Значительный интерес представляет реакция гликозилирования с использованием в качестве гликозидного донора 2'-дезоксирибозы, причем отсутствие 2'-направляющей группы приводит к получению смеси аномеров, что снижает выход целевого продукта, β -аномера.

ОБСУЖДЕНИЕ И РЕЗУЛЬТАТЫ.

Ранее в нашей лаборатории были получены соединения 2',3'-дидезокситимидин **1** и 3'-фтор-2',3'-дидезокситимидин **2** (рис.1) прямой конденсацией по Форбрюгену [2], с использованием в качестве гетероциклического пиримидинового основания тимина в присутствии катализатора Фриделя-Крафтса $(\text{CH}_3)_3\text{SiSO}_2\text{CF}_3$.

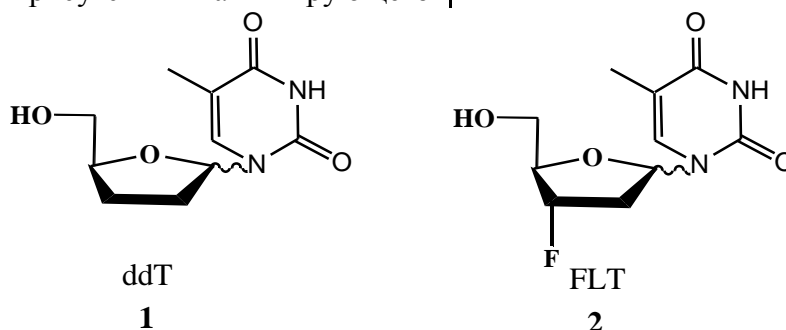


Рисунок 1.

Однако, как было показано [3,4], тиогликозиды являются более эффективными гликозидными донорами для образования гликозидной связи в различных условиях при активации соответствующим агентом в отличие от

ацетилгликозидов. N-Бромсукцинимид использовали для активации тиогликозидов в нейтральных условиях. Данный факт получил экспериментальное подтверждение на примере получения соответствующих соединений **1**, **2** [5]. В ходе исследования

реакцию гликозилирования проводили в следующих условиях: силилированное (основание), NBS, MS 4Å, CH₂Cl₂, -78°C, Ag, что объясняется приведенным ион-парным механизмом [4]. В качестве защитной группы была выбрана *трет*-бутилдифенилсилильная группа, поскольку объем заместителя в 5'-положении рибофуранозного кольца влияет на соотношение α - и β -аномеров в получаемой смеси. Использование в качестве растворителя хлористого метилена, несмотря на низкую растворимость в нем полярных гетероциклических оснований, а следовательно снижение значения выхода, оправдано возможностью проведения реакции при низких температурах, что является необходимым условием для увеличения соотношения аномеров в получаемой смеси в сторону целевого β -аномера. Снижение селективности при использовании в качестве растворителя ацетонитрила подтверждает предполагаемый ион-парный механизм реакции. Полярный растворитель действуя на ионные интермедиаты, способен вызывать диссоциацию ионных пар и привести к снижению количества β -аномера.

Далее, отработанный метод конденсации был применен нами для получения целевого 2',3'-дидезоксиаденозина **8** и 2',3'-дидезоксигуанозина **10**. Синтез пуриновых нуклеозидов в ходе реакции гликозилирования отчасти осложнен тем, что помимо образования смеси α/β аномеров, также образуются региоизомеры по N-7 положению. Кроме того, низкая селективность в реакциях с пуриновыми основаниями объясняется стерическими затруднениями, объемная молекула пурина уменьшает вероятность атаки в β -положение интермедиата. Для того чтобы исключить образование нежелательных N⁷ изомеров, на *экзо* 2-аминогруппу аденина и 6-оксо группу гуанина были введены объемные защитные группы (Схема 1). В случае с аденином была использована бензоильная защитная группа [6]. Силилированный 2-N-Bz-аденин **6** вводили в реакцию конденсации с тиогликозидом **5** в следующих условиях: NBS, MS 4Å, CH₂Cl₂, при -78°C, в атмосфере инертного газа. Поскольку

ранее было известно [7], что N⁷-изомер является кинетическим продуктом реакции гликозилирования, в то время как N⁹-изомер преимущественно термодинамическим, предполагалась зависимость стереоселективности реакции от времени проведения процесса. При проведении реакции конденсации в течение 2-х часов получали смесь α/β аномеров N⁹-изомера **8** и **9** в соотношении 1:1 с выходом 42%. В результате увеличения реакционного времени до 5 часов получали преимущественно β -N⁹-изомер **8**, структура которого была подтверждена данными ¹H-ЯМР спектроскопии. Суммарный выход α/β аномеров составил 45%.

Сигналы соответствующие протонам H-8, 1'-H и 4'-H показали значения химического сдвига (δ): 8,32 (9 α) и 8,34 (9 β), 6,38 (9 α) и 6,39 (9 β), 4,56-4,28 (9 α) и 4,59-4,29 (9 β) м.д., что указывало на отсутствие N⁷ изомеров, поскольку согласно литературным данным, химические сдвиги для протонов изомеров по 9-му положению располагаются в области сильных полей относительно сигналов изомеров по 7-му положению. Точное соотношение аномеров в смеси уточняется. Отнесение сигналов α - и β -аномеров было сделано на основании описанных спектров ddA и аденозина [7,8].

С целью решения задачи региоселективности использовали введение объемной защитной группы по 6-О кислороду гуанина. Обработка защищенного 2-N,9-диацетилгуанина дифенилкарбомоил хлоридом, с последующим гидролизом при нагревании в водно-этанольной смеси приводила к получению 2-N-ацетил-6-О-дифенилкарбамоилгуанина [9]. Силилирование производного гуанина проводили кипячением с N,O-бистриметилсилилацетамидом в дихлорэтане. Производное гуанина **7** вводили в реакцию конденсации с тиогликозидом **5** в аналогичных условиях. В результате реакции получали преимущественно β -изомер N⁹-изомера **10**, структура которого была подтверждена данными ¹H-ЯМР спектроскопии. Точное соотношение аномеров уточняется. Суммарный выход α/β аномеров составил 29%. Отнесение сигналов α - и β -аномеров было сделано на основании описанных спектров для гуанозина

[7] и 3'-фтор-2',3'-дидезоксигуанозина полученного ранее в нашей лаборатории [10].

Таким образом, в ходе исследования были подобраны условия для проведения реакции конденсации силилированных пуриновых гетероциклических оснований **6** и **7** с тиогликозидом **5**. Были сделаны

выводы, что в реакционной смеси отсутствовали региоизомеры по седьмому положению на основании данных ¹H-ЯМР спектроскопии. Введение объемных защитных групп создает стерические препятствия для образования побочного продукта, изомера N⁷

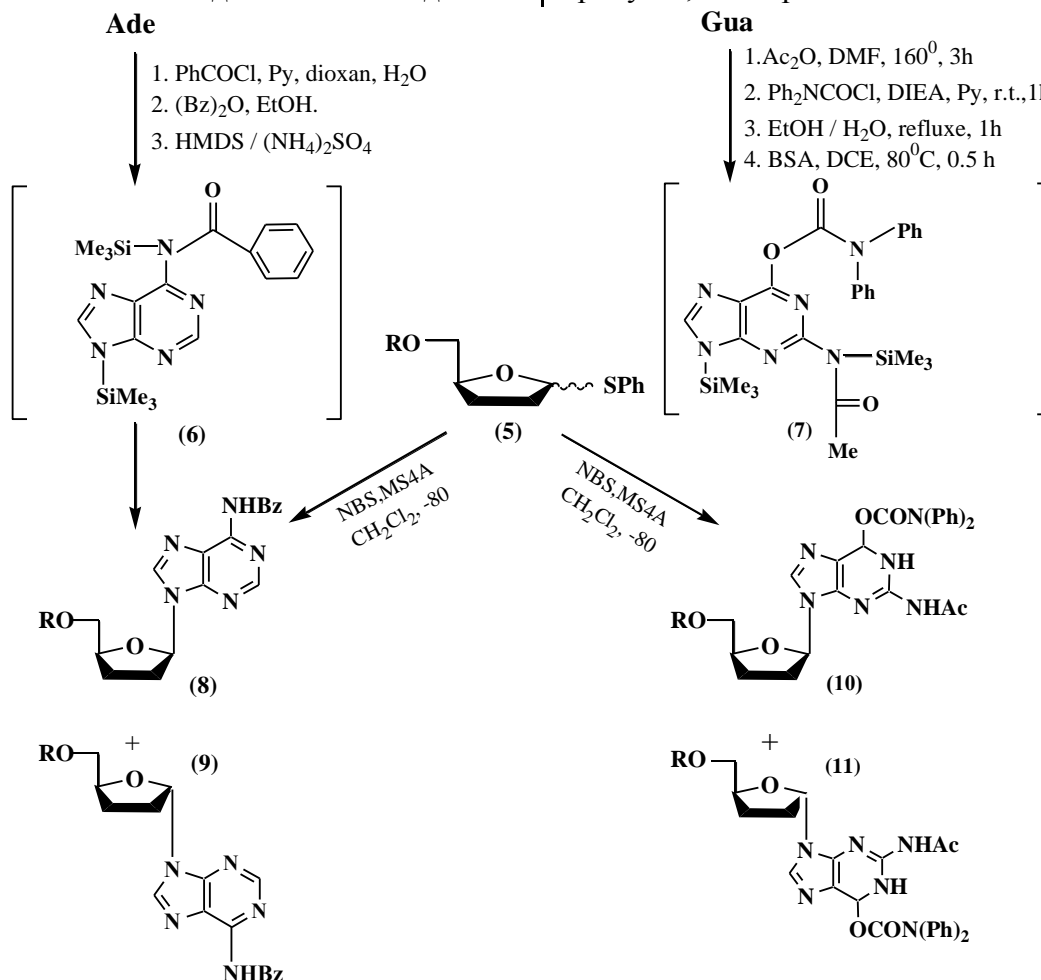


Схема 1.

ЭКПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ.

2-N-бензоил-9-(5'-О-трет-бутилдифенилсилил-2',3'-дидезокси-β-D-пентофуранозил)-аденин (8), 2-N-бензоил-9-(5'-О-трет-бутилдифенилсилил-2',3'-дидезокси-α-D-пентофуранозил)-аденин (9).

А. 2-N-Bz-аденин 0.11 г (0.45 ммоль) кипятили с обратным холодильником в (7 мл) гексаметилдисилазана, в присутствии небольшого количества сульфата аммония ~ 2 ч., в атмосфере инертного газа до образования прозрачного раствора. Затем удаляли остатки HMDS. К раствору силилированного 2-N-Bz-аденина **6** в хлористом метиле добавляли тиогликозид **5** 0.1 г (0.22 ммоль) в атмосфере инертного газа, в присутствии MS 4A и при охлаждении до -80⁰C, а затем NBS 0.087 г (0.49 ммоль) растворенный в небольшом количестве растворителя. Реакционную смесь перемешивали при охлаждении 5 часов. Затем добавляли водный раствор тиосульфата натрия и нагревали реакционную массу до комнатной температуры. Экстрагировали хлористым метилом, сушили безводным сульфатом натрия. Удаляли растворитель, остаток делили на колонке с силикагелем, элюируя системой гексан-этилацета 3:7. Получали смесь аномеров α / β. Выход 0,057 мг. (45 %). ¹H-ЯМР спектр, (CDCl₃), δ, м.д.:

α -аномер: Rf=0.33. ^1H -ЯМР спектр, (CDCl_3), δ , м.д.: 9.05 (NH, s, 4-NH); 8.78 (1H, s, 2-H); 8.32 (1H, s, 8-H); 8.10 (1H, s, 8-H); 7.98-7.3 (15H, m, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{Si}$ -, $(\text{C}_6\text{H}_5)\text{C}(\text{O})$ -); 6.38 (1H, m, 1'-CH); 4.56 (1H, m, 4'-CH); 4.28 (1H, m, 4'-CH); 3.95 (1H, dd, J=6.02, J=6.01, J=11.2, 5'-CH₂); 3.70 (1H, dd, J=7.01, J=7.01, J=12.0, 5'-CH₂); 2.19 (2.5H, m, 2'-CH₂, 3'-CH₂); 1.78 (1.5H, m, 2'-CH₂, 3'-CH₂); 1.00 (9H, s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ -).

β -аномер: Rf=0.41. ^1H -ЯМР спектр, (CDCl_3), δ , м.д.: 9.06 (NH, s, 4-NH); 8.80 (1H, s, 2-H); 8.34 (1H, s, 8-H); 8.12 (1H, s, 8-H); 8.0-7.3 (15H, m, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{Si}$ -, $(\text{C}_6\text{H}_5)\text{C}(\text{O})$ -); 6.38 (1H, m, 1'-CH); 4.59 (1H, m, 4'-CH); 4.29 (1H, m, 4'-CH); 3.95 (1H, dd, J=6.02, J=6.01, J=11.2, 5'-CH₂); 3.71 (1H, dd, J=7.01, J=7.01, J=12.0, 5'-CH₂); 2.19 (2.5H, m, 2'-CH₂, 3'-CH₂); 1.78 (1.5H, m, 2'-CH₂, 3'-CH₂); 1.00 (9H, s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ -).

2-N-ацетил-9-(5'-О-трет-бутилдифенилсилил-2',3'-дидезокси- β -D-пентофуранозил)-6-О-(дифенилкарбамоил)гуанин (10), 2-N-ацетил-9-(5'-О-трет-бутилдифенилсилил-2',3'-дидезокси- α -D-пентофуранозил)-6-О-(дифенилкарбамоил)гуанин (11).

BSA (0,3 мл.) добавляли к суспензии 2-N-ацетил -6-О-(дифенилкарбамоил)гуанина 0,104 г. (0,267 ммоль) в сухом дихлорэтаноле (3 мл.), и перемешивали при 80 °С, в атмосфере инертного газа до образования прозрачного раствора. Затем удаляли остатки силилирующего агента. К раствору силилированного 2-N-ацетил -6-О-(дифенилкарбамоил)гуанина **7** в хлористом метиле добавляли тиогликозид **5** 0,08 г (0,179 ммоль) в атмосфере инертного газа, в присутствии MS 4A и при охлаждении до -80 °С, а затем NBS 0,035 г (0,197 ммоль). Реакционную смесь перемешивали при охлаждении 2 часа. Затем добавляли водный раствор тиосульфата натрия и нагревали реакционную массу до комнатной температуры. Экстрагировали хлористым метилом, сушили безводным сульфатом натрия. Удаляли растворитель, остаток делили на колонке с силикагелем, элюируя системой гексан-этилацетат 7:3. Получали смесь аномеров α/β . Выход 0.038 г (29 %).

α -аномер: Rf=0.37. ^1H -ЯМР спектр, (CDCl_3), δ , м.д.: 8.21 (1H, s, 2-H); 8.19 (1H, s, -NH-); 7.71-7.3 (20H, m, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{Si}$ -, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{N}$ -); 6.2 (1H, m, 1'-CH); 4.25 (1H, m, 4'-CH); 3.90 (1H, dd, J=6.02, J=6.01, J=11.2, 5'-CH₂); 3.70 (1H, dd, J=7.01, J=7.01, J=12.0, 5'-CH₂); 2.5 (3H, s, $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ -), 2.05 (2.5H, m, 2'-CH₂, 3'-CH₂); 1.62 (1.5H, m, 2'-CH₂, 3'-CH₂); 1.00 (9H, s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ -).

β -аномер: Rf=0.58. ^1H -ЯМР спектр, (CDCl_3), δ , м.д.: 8.00 (1H, s, 2-H); 7.90 (1H, s, -NH-); 7.65-7.3 (20H, m, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{Si}$ -, $(\text{C}_6\text{H}_5)_2\text{N}$ -); 6.2 (1H, m, 1'-CH); 4.5 (1H, m, 4'-CH); 3.90 (1H, dd, J=6.02, J=6.01, J=11.2, 5'-CH₂); 3.70 (1H, dd, J=7.01, J=7.01, J=12.0, 5'-CH₂); 2.5 (3H, s, $\text{CH}_3\text{C}(\text{O})$ -) 2.05 (2.5H, m, 2'-CH₂, 3'-CH₂); 1.62 (1.5H, m, 2'-CH₂, 3'-CH₂); 1.00 (9H, s, $(\text{CH}_3)_3\text{C}$ -).

ЛИТЕРАТУРА:

1. Erik De Clerc, *Biochimica et Biophysica Acta*, 1587, 258-275 (2002)
2. H. Vorbrüggen and V. Bennua, *J. Chem. Ber.*, 114, 1279-1286 (1981)
3. K.Sujino and H.Sujimura, *Synlett*, 553-555 (1992)
4. H.Sujimura, K.Osumi and K.Sujino, *J. Org. Chem.*, 59 (25), 7653-7660 (1994)
5. Г.Д.Гунгарова, А.И.Давыдова, А.С.Архипова, Е.Н.Савватеева, Ю.Г. Кириллова А.И.Люттик, А.М.Юркевич, В.И.Швец, *Химфарм* (в печати)
6. L.Horner and H.Neumann, *J. Chem. Ber.*, 98, 3462 (1965)
7. H.Sugimura, K. Osumi and K.Sujino, *J. Org. Chem.*, 59 (25), 7653-7660 (1994)
8. P.Garner and S.Ramakanth, *J. Org. Chem.*, 53, 1294-1298 (1988)
9. Z.Ruiming and M.J.Robins, *Can. J. Chem.*, 65, 1436-1437 (1987)
10. Савватеева Е.Н., Магистерская диссертация «Исследование путей синтеза 2,3-дидезокси-3-фторгуанозина», М 2003, 65-66.