



УДК 547.854

ПРЕВРАЩЕНИЯ 5-ПОЛИФТОРАЛКИЛ-
И 5-ПОЛИФТОРАЛКОКСИМЕТИЛУРИДИНОВ

Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Софьин А. В.,
Ворновицкая Г. И., Дубинина И. Г.,
Преображенская М. Н.

Онкологический научный центр Академии медицинских
наук СССР, Москва.

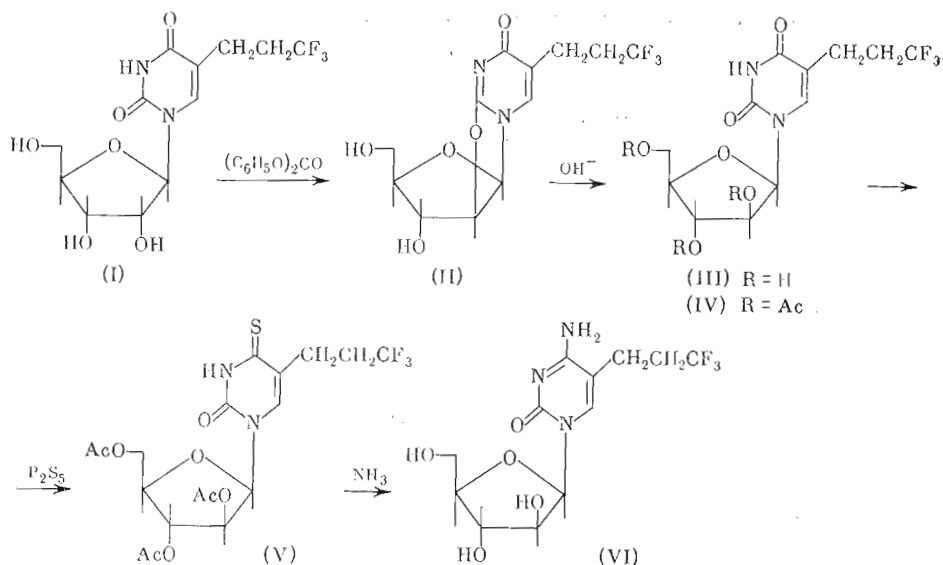
Взаимодействием 1-(β-D-рибофуранозил)-5-(3,3,3-трифторпропил)урацила с дифенилкарбонатом получен 2,2'-ангидро-1-(β-D-рибофуранозил)-5-(3,3,3-трифторпропил)урацил, который превращен в 1-(β-D-арабинофуранозил)-5-(3,3,3-трифторпропил)урацил. Из 2',3',5'-три-О-ацетатов 1-(β-D-арабинофуранозил)-5-(3,3,3-трифторпропил)урацила и 1-(β-D-рибофуранозил)-5-(2,2,3,3-тетрафторпропоксиметил)урацила тионированием и последующим ампированием синтезированы соответствующие производные цитозина. Показано, что 1-(β-D-рибофуранозил)-5-(3,3,3-трифторэтоксиметил)урацил, 1-(β-D-рибофуранозил)-5-(2,2,3,3-тетрафторпропоксиметил)урацил и 1-(β-D-арабинозил)-5-(3,3,3-трифторпропил)урацил не влияют на активность уридинкиназы и UMP-, UDP-киназ в ферментных системах, фосфорилирующих уридин до UMP и UMP до UTP.

Ранее мы описали получение модифицированных уридинов, содержащих в положении 5 гидрофобные полифторалкильные заместители. Было найдено, что эти соединения не проявляют противоопухолевой активности в системах *in vitro* и в опытах на животных с перевиваемыми опухолями [1, 2]. В то же время известна высокая противоопухолевая активность 1-β-D-арабинозилцитозина и его 5-фторпроизводного [3]. В связи с этим изучена возможность перехода от синтезированных нами модифицированных уридинов к 5-замещенным 1-(β-D-рибофуранозил)- и 1-(β-D-арабинофуранозил)цитозинам и к 5-замещенным 1-(β-D-арабинозил)урацилам, которые можно рассматривать как структурные аналоги 5-трифтортимидина, являющегося ингибитором тимидилатсинтетазы.

Взаимодействием 1-(β-D-рибофуранозил)-5-(3,3,3-трифторпропил)урацила (I) (схема 1) с дифенилкарбонатом в диметилформамиде при 150° [4] получен 2,2'-ангидро-1-(β-D-арабинофуранозил)-5-(3,3,3-трифторпропил)урацил (II), обработка которого щелочью при 100° в течение 1 ч привела к образованию соответствующего 1-β-D-арабинозида (III).

Из три-О-ацетата арабинозида (IV) по известной методике [5] синтезировано 4-тиопроизводное (V). Окончание реакции определяли спектрофотометрически по исчезновению максимума поглощения при 262 нм и появлению нового максимума при 335 нм, характерного для 4-тиопириимидиновых нуклеозидов. Анализ реакционной массы методом ТСХ показал, что наряду с тионированием происходит частичное дезацетилирование производного (IV). Для замены 4-тиоогруппы на аминогруппу соединение (V) было обработано насыщенным раствором аммиака в метаноле при 100°, при

Схема 1



этом происходило одновременное отщепление ацетильных групп. Окончательные реакции определяли спектрофотометрически ($\epsilon_{325}/\epsilon_{280} \leq 0,2$). 1-(β-D-Арабинофуранозил)-5-(3,3,3-трифторпропил)цитозин (VI) выделили с помощью препаративной ТСХ.

Строение соединений (II) — (VI) подтверждено их ПМР-спектрами (табл. 1). Отнесение сигналов и определение констант спин-спинового вза-

Таблица 1

Спектры ПМР 5-полифторалкил- и 5-полифторалкоксиметилнуклеозидов при 20°

Соединение	Растворитель	Химический сдвиг, δ, м.д. (J, Гц)				
		C1'-H (H1'2')	Другие протоны углеводной части	CH ₃ -CO-	C6-H	Протоны фторалкильной группы
(II)	CD ₃ OD	6,18д (5,6)	C2'-H 5,12д; C3'-H 4,38с ($J_{2'3'}=0,5$; C4'-H 4,12м; C5'-H, C5''-H 3,36д ($J_{4'5'}=J_{4'5''}=4,2$))	—	7,54	2,18—2,7
(III)	CD ₃ OD	5,98д (4,0)	C2'-H, C3'-H 3,90—4,12м ($J_{2'3'}=J_{3'4'}=3,5$); C4'-H, C5'-H, C5''-H 3,66—3,90м	—	7,62	2,2—2,6
(IV)	CDCl ₃	6,24д (4,0)	C2'-H 5,40м; C3'-H 5,06м; C4'-H, C5'-H, C5''-H 4,0—4,6м	2,02с; 2,12с; 2,14с	7,40	2,3—2,8
(V)	CDCl ₃	6,18	C2'-H 5,40м; C3'-H 5,06 м; C4'-H, C5'-H, C5''-H 4,1—4,6м	2,01с; 2,10с; 2,12с	7,40	2,28—2,96
(VI)	DMSO-d ₆	5,98д (4,0)	3,56—4,1м	—	7,55	*
	CD ₃ OD	6,16	3,74—4,40	—	7,78	2,2—2,8
(X)	CD ₃ OD	5,92д (1,0)	3,6—4,3	—	8,32	CF ₂ -H 6,20** (J_{HF} , гем 52, J_{HF} , виц 5); C5-CH ₂ -4,48с

* Маскируется сигналом растворителя.

** Триплет триплетов.

Таблица 2

Влияние соединений (III), (VII) и (XI) на фосфорилирующую активность уридинкиназы и UMP-, UDP-киназы

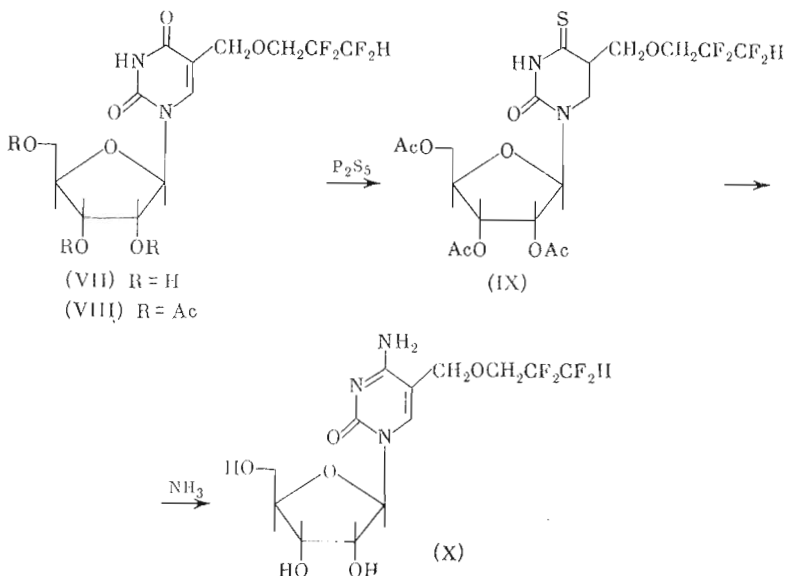
Соединение	Количество ммоль в опыте	Активность, имп/мин	
		уридинкиназы	UMP-, UDP-киназы
(III)	1	930	—
	2	900	—
	1,2	—	2050
(VII)	1	860	—
	2	860	—
	0,6	—	1890
	1,2	—	2100
(XI)	1	910	—
	2	880	—
	0,6	—	2030
	1,2	—	1600
Контроль	—	850	2070

имодействия осуществлено с использованием метода двойного резонанса. Для соединения (II) величина константы спин-спинового взаимодействия $J_{2',3'}$ близка к нулю, что характерно для производных фуранозы, в которых заместители при C1' и C2' образуют второе пятичленное кольцо (протоны при C2' и C3' ориентированы так, что двугранный угол H—C2—C3—H близок к 90°) [6].

Синтез 1-(β-D-рибофуранозил)-5-(2,2,3,3-тетрафторпропоксиметил)урацила (VII) описан нами ранее [2]. Нам не удалось превратить его в 2,2'-ангидропроизводное действием дифенилкарбоната в диметилформамиде или гексаметилтриамиде фосфорной кислоты [7], а также через соответствующий 2',3'-O-сульфинат [8].

Для синтеза соединения (X) мы использовали три-O-ацетат (VIII) (схема 2), который превратили сначала в 4-тиопроизводное (IX), а затем в 1-(β-D-рибофуранозил)-5-(2,2,3,3-тетрафторпропоксиметил)цитозин (X).

Схема 2



Известно, что аналоги нуклеозидов после превращения в клетке под действием соответствующих киназ в аналоги нуклеотидов проявляют анти-метаболическую активность. Мы изучили биологическую активность производных урацилов (III), (VII) и 1-(β-2-рибофуранозил)-5-(3,3,3-трифтор-этоксиметил)-урацила (XI) в ферментных системах, фосфорилирующих уридин до UMP и UMP до UTP. Активность уридинкиназы определяли по превращению [¹⁴C] уридина в [¹⁴C]UMP, активность UMP- и UDP-киназ определяли суммарно по превращению [³H]UMP в [³H]UTP и выражали в импulsах в минуту. Из табл. 2 видно, что соединения (III), (VII) и (XI) не влияют на активность уридинкиназы и UMP-, UDP-киназ. Некоторое действие соединения (XI) на активность UMP-, UDP-киназ наблюдается при содержании 1,2 ммоль. Но если учесть, что концентрация этого препарата в инкубационной среде превышает содержание субстрата UMP в 8 раз, т. е. почти на порядок, то очевидно, что этот эффект незначителен. По-видимому, одной из причин отсутствия противоопухолевой активности у синтезированных нами соединений, отмеченного ранее [2], является их неспособность фосфорилироваться в биологических системах.

Экспериментальная часть

Спектры ПМР сняты на приборе JNM-MH-100 (Япония), внутренний стандарт — тетраметилсилан. УФ-спектры сняты на регистрирующем спектрофотометре Unicam SP-800 (Англия), толщина кюветы 1 см. ИК-спектры сняты на приборе UR-10 (ГДР) в таблетках с KBr. Для тонкослойной хроматографии использовали силуфол UV₂₅₄, препаративную хроматографию проводили на стеклянных пластинах (20 × 20 см), используя силикагель LL₂₅₄, толщина слоя 1 мм. Уридинкиназу и UMP-, UDP-киназу выделяли из клеток асцитной гепатомы Зайдела, перевиваемой на белых крысах Wistar весом 150 г. Опухолевые клетки выделяли на 5—6-е сутки после перевивки, освобождали их от асцитической жидкости и эритроцитов, как описано ранее [9]. Частично очищенную уридинкиназу выделяли по модифицированному методу [10], включающему осмотический шок клеток, гомогенизацию, отделение ядер, митохондрий и микросомальных частиц, осаждение нуклеиновых кислот сульфатом стрептомицина, дробное фракционирование белков сульфатом аммония. Уридинкиназу получали осаждением белков в интервале 30—40% насыщения сульфатом аммония. UMP-, UDP-киназы (общая фракция) содержались во фракциях белков, осаждающихся в пределах 50—80% насыщения сульфатом аммония. Осадки белков, содержащих ферменты, растворяли в 0,01 М трис-HCl-буфере (pH 7,5) с 0,1 мкмоль дитиотрента. Количество добавленных в среду [¹⁴C]уридина для уридинкиназы и [³H]UMP для UMP-, UDP-киназ составляло величины полунасыщения ферментов субстратами. Радиоактивность подсчитывали в жидком сцинтилляторе (в 1 л сцинтилляционного толуола растворяли 4 г PPO и 0,2 г POPOP) на счетчике Nuclear Chicago Mark-2.

2,2'-Ангидро-1-(β-D-арабинофуранозил)-5-(3,3,3-трифторпропил)урацил (II). Смесь, состоящую из 0,7 г (0,02 моль) 5-(3,3,3-трифторпропил)уридина (I), 0,58 г (0,027 моль) дифенилкарбоната и 0,04 г бикарбоната натрия в 25 мл диметилформамида, нагревали 30 мин при 150°. Охлажденную реакционную массу выливали в 120 мл эфира, осадок отделяли и вещество очищали препаративной ТСХ в системе этилацетат — спирт (4 : 1). Выход соединения (II) 0,37 г (56%), т. пл. 39—40°, $\lambda_{\text{макс}}^{\text{спирт}}$ 251 нм (ϵ 7600). Найдено, %: С 44,29; Н 4,71; F 16,65. C₁₂H₁₃F₃N₂O₅. Вычислено, %: С 44,72; Н 4,04; F 17,70.

1-(β-D-Арабинофуранозил)-5-(3,3,3-трифторпропил)урацил (III). Раствор 0,37 г (0,01 моль) ангидросоединения (II) в 18,5 мл 0,1 н. NaOH нагревали 1 ч при 100°. Реакционную массу после охлаждения нейтрализовали дауэксом-50 (H⁺) до pH 7, смолу отделяли, растворитель отгоняли в ваку-

уме, остаток высушивали и очищали препаративной ТСХ в системе этилацетат — спирт (4 : 1). Выход соединения (III) 0,3 г (76%), т. пл. 223—224°; $\lambda_{\text{макс}}^{\text{спирт}}$ 262 нм (ϵ 9000), $\lambda_{\text{макс}}^{0,1\text{н. NaOH}}$ 262 нм (ϵ 8200). Найдено, %: С 42,28; Н 4,64; F 16,77. $\text{C}_{12}\text{H}_{15}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_6$. Вычислено, %: С 42,35; Н 4,41; F 16,76.

1-(2',3',5'-Три-О-ацетил- β -D-арабинофуранозил)-5-(3,3,3-трифторпропил)урацил (IV). Раствор 0,62 г (0,02 моль) арабинозида (III) в 11 мл сухого пиридина и 8 мл уксусного ангидрида выдерживали 2 ч при 20°. Растворитель упаривали в вакууме, следы пиридина удаляли отгонкой с толуолом. Получали 0,8 г (95%) хроматографически однородного ацетата (IV). Аналитически чистый образец получали препаративной ТСХ в системе хлороформ — этилацетат (3 : 1), т. пл. 50—51°, $\lambda_{\text{макс}}^{\text{спирт}}$ 262 нм (ϵ 9300), $\lambda_{\text{макс}}^{0,1\text{н. NaOH}}$ 268 нм (ϵ 8000); ИК: 3240, 1750, 1680 см^{-1} . Найдено, %: С 45,64; Н 4,94; F 12,08. $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_9$. Вычислено, %: С 46,35; Н 4,51; F 12,23.

1-(2',3',5'-Три-О-ацетил- β -D-арабинофуранозил)-4-тио-5-(3,3,3-трифторпропил)урацил (V). К раствору 0,65 г (1,4 ммоль) соединения (IV) в 30 мл сухого диоксана прибавляли 0,35 г P_2S_5 и нагревали при кипении 45 мин, затем добавляли 0,3 г P_2S_5 и кипятили еще 45 мин. Реакционную смесь охлаждали, фильтровали и упаривали досуха. Остаток обрабатывали 5 мл воды (60°), экстрагировали хлороформом (3 \times 10 мл). Объединенные экстракты промывали последовательно 5% NaHCO_3 , водой, сушили Na_2SO_4 , упаривали досуха. Вещество очищали препаративной ТСХ в системе хлороформ — этилацетат (3 : 1). Выход 4-тиопроизводного (V) 0,59 г (88%), $\lambda_{\text{макс}}^{\text{спирт}}$ 335 нм. Найдено, %: S 7,57. $\text{C}_{18}\text{H}_{21}\text{F}_3\text{N}_2\text{O}_8\text{S}$. Вычислено, %: S 6,62.

1-(β -D-Арабинофуранозил)-5-(3,3,3-трифторпропил)цитозин (VI). Раствор 0,4 г (8 ммоль) соединения (V) в 20 мл сухого метанола, насыщенного при 0° газообразным аммиаком, нагревали 17 ч в стальной ампуле при 100°. Реакционную массу охлаждали, фильтровали, растворитель отгоняли в вакууме, остаток (0,32 г) хроматографировали на слое силикагеля в системе хлороформ — метанол (4 : 1). Выход соединения (VI) 0,16 г (57%), т. пл. 202—203° (из спирта), $\lambda_{\text{макс}}^{\text{спирт}}$ 280 нм (ϵ 6000), пикрат, т. пл. 178—179° (из спирта). Найдено, %: С 37,83; Н 3,52; F 10,97. $\text{C}_{18}\text{H}_{19}\text{F}_3\text{N}_6\text{O}_{12}$. Вычислено, %: С 38,03; Н 3,34; F 10,03.

1-(2',3',5'-Три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)-4-тио-5-(2,2,3,3-тетрафторпропоксиметил)урацил (IX). Получен из 1 г (0,02 моль) три-О-ацетата (VI) [2] и 0,65 г P_2S_5 в 30 мл диоксана в условиях, описанных для соединения (V). Выход 0,54 г (52,3%), т. пл. 51—52°, $\lambda_{\text{макс}}^{\text{спирт}}$ 328 нм. Найдено, %: S 7,78. $\text{C}_{19}\text{H}_{22}\text{F}_4\text{N}_2\text{O}_9\text{S}$. Вычислено, %: S 6,04.

5-(2,2,3,3-Тетрафторпропоксиметил)цитидин (X). Раствор 0,3 г (0,56 ммоль) тиопроизводного (IX) в 9 мл сухого метанола, насыщенного при —25° газообразным аммиаком, нагревали 10 ч в стальной ампуле при 100°. Реакционную смесь охлаждали, растворитель упаривали в вакууме, остаток хроматографировали на слое силикагеля. Для отделения побочного ацетамида через пластину дважды прогоняли хлороформ, соединение (X) хроматографировали в системе хлороформ — метанол (4 : 1). Выход 0,2 г (71,4%), $\lambda_{\text{макс}}^{\text{спирт}}$ 275 нм. Найдено, %: С 31,19; Н 5,12. $\text{C}_{13}\text{H}_{17}\text{F}_4\text{N}_2\text{O}_6 \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Вычислено, %: С 31,51; Н 5,86. К раствору 100 мг соединения (IX) в 5 мл воды прибавляли 0,15 мл 2 М HCl . Растворитель упаривали в вакууме, остаток сушили упариванием смеси этилового спирта с толуолом в соотношении 1 : 1 (3 \times 5 мл), затем над P_2O_5 при 50°/1 мм. Получали 110 мг хлоргидрата (X), $\lambda_{\text{макс}}^{\text{спирт}}$ 275 нм (ϵ 3850). Найдено, %: С 29,21; Н 4,95. $\text{C}_{13}\text{H}_{18}\text{F}_4\text{N}_2\text{O}_6\text{Cl} \cdot 6\text{H}_2\text{O}$. Вычислено, %: С 29,35; Н 3,39.

Действие соединений (III), (VII) и (XI) на активность а) уридинкиназы и б) UMP-, UDP-киназ. Количество соединений (III), (VII) и (XI) в ре-

акционной среде указано в табл. 2. а) Реакционная среда содержала: трис-НСl-буфер (рН 7,4) — 50 мкмоль; MgCl₂ — 4,2; АТР — 1,68; [¹⁴С]уридин — 0,5 мкмоль; фермент — 200 мкг. Объем реакционной среды 0,5 мл. Пробы инкубировали 10 мин в ультратермостате при 37°. Реакцию останавливали, помещая пробы в водяную баню при 100° на 3 мин. После осаждения белка 0,01 мл инкубационной смеси наносили на диски DEAE-целлюлозной бумаги DE-81 и для удаления [¹⁴С]уридина промывали последовательно 0,001 М НСООН₄ (2 × 30 мл), водой, спиртом, высушивали и подсчитывали радиоактивность образовавшегося UMP.

б) Реакционная среда содержала: трис-НСl-буфер (рН 7,5) — 10 мкмоль; MgCl₂ — 5; АТР — 1,6; [³Н]UMP — 0,15 мкмоль; фермент — 400 мкг. Объем среды и условия реакции аналогичны описанным выше. 0,003 мл инкубационной смеси наносили на пластинки силуфола, разделение нуклеотидов проводили в системе *n*-бутанол — ацетон — ледяная уксусная кислота — 5% NH₄OH — вода (7 : 7 : 3 : 3 : 1). Пятно [³Н]UMP вырезали и определяли его радиоактивность.

ЛИТЕРАТУРА

1. Мельник С. Я., Преображенская М. Н., Бахмедова А. А., Герман Л. С., Полищук В. Р. (1975) Ж. орган. химии, **11**, 190—193.
2. Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Преображенская М. Н., Платонова Г. Н., Лесная Н. А., Софьина З. П. (1976) Ж. орган. химии, **12**, 652—655.
3. Heidelberger Ch. (1973) in *Cancer Medicine* (Holland J. F., Frei E., eds.), pp. 768—794, Lea and Febiger, Philadelphia.
4. Ogilvie K. K., Iwacha D. (1969) *Can. J. Chem.*, **47**, 495—497.
5. Watanabe K. A., Chiu T. M., Hollenberg D. H., Fox J. J. (1974) *J. Org. Chem.*, **39**, 2482—2486.
6. Мельник С. Я., Уткина Е. А., Преображенская М. Н., Суворов Н. Н. (1974) Ж. орган. химии, **10**, 750—754.
7. Verheyden J. P. H., Wagner D., Moffatt J. G. (1971) *J. Org. Chem.*, **36**, 250—254.
8. Sowa T., Tsunoda K. (1975) *Bull. Chem. Soc. Jap.*, **48**, 505—507.
9. Ворновицкая Г. И., Ольшанецкая А. Д., Новикова М. А., Карелина Л. П., Морозова Н. С., Шанот В. С. (1972) *Биохимия*, **37**, 940—947.
10. Orengo A. (1969) *J. Biol. Chem.*, **244**, 2204—2210.

Поступила в редакцию
26.III.1976

TRANSFORMATION OF 5-POLYFLUOROALKYL- AND 5-POLYFLUOROALKOXYMETHYLURIDINES

MELNIK S. YA., BAKHMEDOVA A. A., SOFIN A. V.,
VORNOVITSKAYA G. I., DUBININA I. G., PREOBRAZHENSKAYA M. N.

*Cancer Research Center, Academy of Medical Sciences
of the USSR, Moscow*

The interaction between 1-β-*D*-ribofuranosyl-5-(3,3,3-trifluoropropyl)uracil and diphenylcarbonate gave 2,2'-anhydro-1-β-*D*-ribofuranosyl-5-(3,3,3-trifluoropropyl)uracil which was converted to 1-β-*D*-arabinofuranosyl-5-(3,3,3-trifluoropropyl)uracil. By thionation and subsequent amination of 2',3',5'-tri-*O*-acetates of 1-β-*D*-arabinofuranosyl-5-(3,3,3-trifluoropropyl)uracil and 1-β-*D*-ribofuranosyl-5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxymethyl)uracil were obtained corresponding cytosine derivatives. It was shown that 1-β-*D*-ribofuranosyl-5-(3,3,3-trifluoroethoxymethyl)uracil, 1-β-*D*-ribofuranosyl-5-(2,2,3,3-tetrafluoropropoxymethyl)uracil and 1-β-*D*-arabinofuranosyl-5-(3,3,3-trifluoropropyl)uracil tested do not affect uridine kinase and UMP, UDP-kinases in enzyme systems phosphorylating uridine to UMP and UMP to UTP.