



УДК 547.853

ДИАСТЕРЕОМЕРНЫЕ 2',3'-О-(1-АДАМАНТИЛ)ФОСФОНАТЫ УРИДИНА И 5'-ФТОР-5'-ДЕЗОКСИУРИДИНА *

*Преображенская М. Н., Мельник С. Я., Олейник Д. М.,
Шепелева Е. С., Турчин К. Ф., Санцун П. И.*

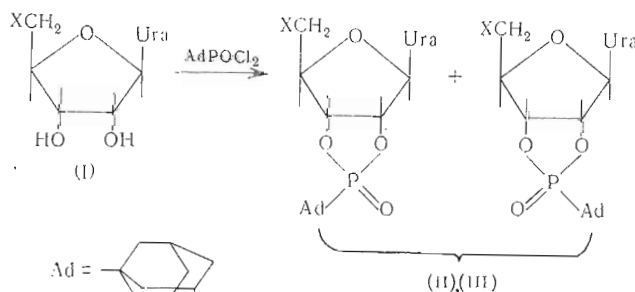
*Онкологический научный центр Академии медицинских наук СССР, Москва
Институт нефтехимического синтеза им. А. В. Топчиева
Академии наук СССР, Москва*

Взаимодействием дихлорангидрида 1-адамантилфосфоновой кислоты с уридином и 5'-фтор-5'-дезоксиуридином получены аналоги циклонуклеотидов нового типа — 2',3'-О-(1-адамантил)фосфонаты уридина и 5'-фтор-5'-дезоксиуридина. Показано, что в каждом случае образуется смесь двух 2',3'-О-фосфонатов, различающихся конфигурацией у асимметричного атома фосфора.

Задачей настоящего исследования явилось изучение адамантилфосфонатов уридина и его производных. Адамантилфосфонаты — это аналоги нуклеотидов нового типа, для которых можно предполагать способность проникать через клеточный барьер. Интерес к соединениям этого класса определяется также высокой биологической активностью некоторых производных адамантана [2]. Циклоалкилфосфонаты нуклеозидов до настоящего времени не изучались, в связи с этим циклоадамантилфосфонаты нуклеозидов представляют особый интерес.

В качестве фосфорилирующего агента мы использовали дихлорангидрид 1-адамантилфосфоновой кислоты $AdPOCl_2$ [3]. Уридин (Ia) взаимодействовал с $AdPOCl_2$ в пиридине с образованием трудно разделяемой смеси двух соединений [1], которые, судя по данным ЯМР, масс-спектрометрии и отсутствию подвижности при электрофорезе на бумаге в фосфатно-щелочном (рН 7,7) и боратном (рН 9,2) буферах, являются изомерными цикло-(1-адамантил)фосфонатами уридина (IIa) и (IIIa).

С х е м а



a: X = OH; б: X = OAc; в: X = F

* Предварительное сообщение см. [1].

Таблица 1

Данные масс-спектров соединений (IIб) и (IIIб)

m/e	Интенсивность, %		m/e	Интенсивность, %	
	(IIб)	(IIIб)		(IIб)	(IIIб)
111	1,9	2,5	282	1,6	2,5
112	3,8	7,5	295	94,9	87,5
113	6,3	20	312	11,0	13,8
135	81,5	97,6	313	12,0	33,8
148	16,0	35,0	331	1,2	2,5
191	66,3	71,3	355	100	100
201	1,72	2,5	363	1,6	2,5
207	9,3	11,3	393	5,3	10,0
216	4,5	12,5	406	22,0	36,3
217	24,0	38,8	423	0,5	1,3
250	25,0	35,0	424	0,4	1,9
266	10,6	15,0	466	0,7	8,8

Смесь циклоадамантилфосфонатов (IIa) и (IIIa) без разделения ацетилировали действием уксусного ангидрида в пиридине, при этом было отмечено образование двух ацетильных производных (IIб) и (IIIб), различающихся по подвижности при ТСХ, которые удалось хроматографически разделить; соотношение выделенных веществ составляет 2,5 : 1, причем предпочтительно образуется ацетат с большей величиной R_f (IIб). Идентичные ацетильные производные примерно в таком же соотношении были получены и при взаимодействии AdPOCl_2 с 5'-О-ацетилируридином (Iб). В УФ-спектрах ацетатов (IIб) и (IIIб) имеется максимум поглощения в области 260 нм. В ИК-спектрах в отличие от неацетилированных соединений появляется полоса поглощения сложноэфирной группировки при 1750 см^{-1} . Кривые КД для ацетатов (IIб) и (IIIб), как и для исходного уридина (Ia), имеют положительный максимум в области 270 нм. Оба соединения неподвижны при электрофорезе на бумаге в фосфатно-щелочном буфере при pH 7,7 и в боратном буфере при pH 9,2. В масс-спектре ацетатов (IIб) и (IIIб) имеются молекулярные пики с m/e 466; характер фрагментации для обоих изомеров очень близок (табл. 1).

Параметры спектров ЯМР ацетатов (IIб) и (IIIб) (табл. 2) определены с использованием метода двойного резонанса, взаимодействие H—C—O—P подтверждено гетероядерным двойным резонансом $\text{H}^1 \{^{31}\text{P}\}$. Как и в случае неацетилированных соединений, положения сигналов соответствующих протонов пиримидинового кольца и 1'-СН соединений (IIб) и (IIIб) весьма близки. Сигнал 5'- CH_2 для этих соединений смещен в слабое поле по сравнению с сигналами соответствующих неацетилированных соединений. Ацетаты (IIб) и (IIIб) имеют близкие величины $J_{1',2}$ и $J_{2',3'}$, что свидетельствует о примерно одинаковом конформационном состоянии фрагмента $\text{C}_{(1')} - \text{C}_{(2')} - \text{C}_{(3')}$ в обоих изомерах. Наибольший интерес вызывают различия значений $^3J_{\text{H},\text{P}}$ для изомеров (IIб) и (IIIб). Значения величин $^3J_{\text{H},\text{P}}$ для ацетата (IIб), образующегося в большем количестве, близки соответствующим величинам для 2', 3'-циклофосфата уридина и существенно отличаются от $^3J_{\text{H},\text{P}}$ у 3',5'-циклофосфата уридина [4, 5]. Из значений констант спин-спиновой взаимодействия следует, что в обоих изомерах (IIб) и (IIIб) остаток $\text{AdPO}_3 <$ присоединен к $\text{C}_{2'}$ - и $\text{C}_{3'}$ -атомам. Таким образом, можно сделать вывод, что полученные соединения (IIб) и (IIIб) представляют собой диастереомерные по фосфору 2', 3'-О-(1-адамантил)фосфонаты 5'-О-ацетилируридина.

При взаимодействии 5'-фтор-5'-дезоксуридина (Iв) [6] с AdPOCl_2 также образовывались два соединения (IIв) и (IIIв), которые были разделены при помощи ТСХ на силикагеле, причем более подвижный (IIв)

Данные спектров ЯМР полученных соединений *

Соединение	Химические сдвиги, δ , м.д.							J, Гц					Растворитель, температура, °С	
	АсО	5'-CH ₂	4'-CH	3'-CH	2'-CH	1'-CH	5'-CH	6'-CH	J _{5,6}	J _{1',2'}	J _{2',3'}	J _{3',4'}		J _{2'-H,P}
(IIб)	1,98	4,29—4,61	5,42	5,64	5,87	5,73	7,70	7,8	2,0	7,0	5,0	7,0	15	CD ₃ OD, 50°
(IIIб)	2,06	4,25—4,33	5,30	5,66	5,63	5,69	7,60	7,8	2,0	6,5	3,5	2,0	6,5	CD ₃ OD, 50°
(IIв)	—	4,55 **	4,40	5,08	5,34	5,57	7,42	7,5	2,0	7,0	5,0	7,0	14	CD ₃ OD, 20°
(IIIв)	—	4,60 **	4,40	5,22	5,44	5,78	7,44	7,5	2,0	6,5	3,5	3,0	6,5	CD ₃ OD, 20°

* Данные спектра ЯМР для 2',3'-циклофосфата уридина [5] (вода, pH 7,2; 30°): J_{1',2'}, 2' 3,0 J_{2',3'} 6,9, J_{3',4'} 5,5, J_{2'-H,P} 6,9, J_{3'-H,P} 11,5 Гц. ** J_H, F_{Гем} 48 Гц.

Таблица 3

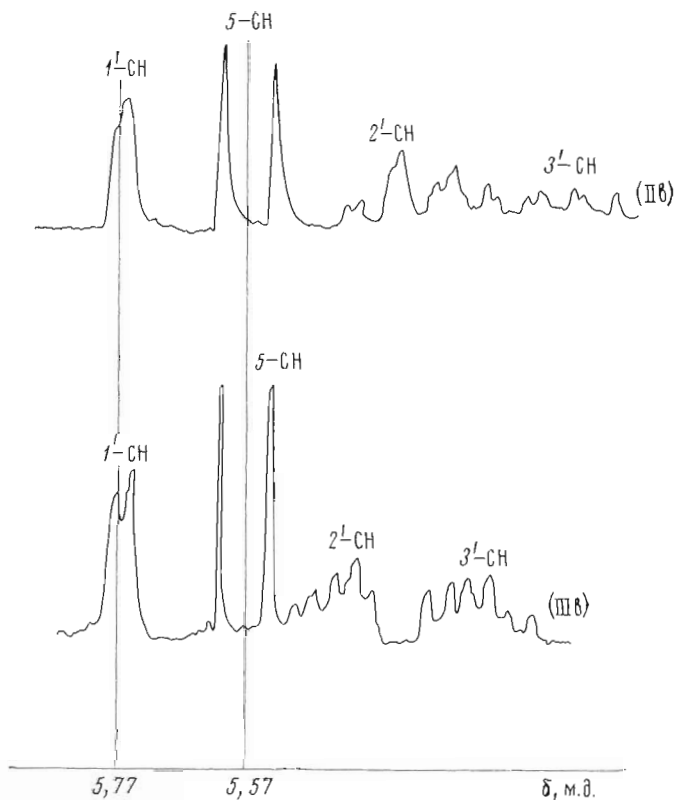
Данные масс-спектров соединений (IIв) и (IIIв)

m/e	Интенсивность, %		m/e	Интенсивность, %	
	(IIв)	(IIIв)		(IIв)	(IIIв)
112	17,1	17,3	265	28,1	11,1
113	37,8	27,2	294	78,0	45,6
135	100	98,8	295	92,7	84,0
136	80,5	79,0	296	49,8	19,8
167	53,6	16,1	314	92,6	90,2
168	82,9	42,0	315	91,6	100
210	80,5	54,4	393	8,5	3,7
211	90,3	70,4	406	50,0	8,6
216	69,5	35,8	425	13,4	3,7
217	69,5	22,2	426	17,1	37,1

и менее подвижный (IIIв) изомеры образовывались примерно в том же соотношении, что и в предыдущем случае. Выделенные соединения (IIв) и (IIIв), подобно описанным выше, являются диастереомерными по фосфору 2',3'-O-(1-адамантил)фосфонатами 5'-фтор-5'-дезоксиридина, что следует из данных масс-спектрометрии и ЯМР (см. табл. 2, 3 и рисунок). Можно отметить совпадение величины J_{1',2'}, J_{2',3'}, а также J_{2'-H,P}, J_{3'-H,P} для стереохимически сходных фосфонатов в обоих парах соединений.

Образование пятичленных циклофосфонатов при действии AdPOCl₂ на нуклеозиды оказалось для нас неожиданным. В работе Моффатта с сотр. [7] было высказано предположение, что 2',3'-O-метилфосфонаты 5'-O-ацилуридина неустойчивы и легко раскрываются с образованием смеси 2'- и 3'-O-метилфосфонатов 5'-O-ацилуридина. Неожиданным было также то, что первичная оксигруппа не реагировала с AdPOCl₂ в этих условиях. Оказалось, что 2',3'-O-изопропилиденуридин практически не взаимодействует с AdPOCl₂ в пиридине при 37°. Мы не наблюдали также образования 3',5'-циклофосфонатов. Можно полагать, что относительно высокая стабильность полученных нами 2',3'-циклофосфонатов обусловлена эффектом пространственного экранирования связи P—O—C объемистым адамантановым фрагментом, тогда как, по-видимому, в шестичленном 3',5'-O-адамантилфосфонате этот эффект менее выражен.

Мы предполагаем, что изомеры (II) и (III) различаются конфигурацией асимметричного атома фосфора: в одном из изомеров адамантановый



Спектр ЯМР соединений (IIb) и (IIIb) в области 4,9—6,0 м. д.

фрагмент занимает в молекуле уридина эндо- (S) , а в другом — экзоположение (R) . Отнесение изомеров к R - и S -ряду явится предметом отдельного исследования. Особый интерес представляет сопоставление конформационных особенностей изомерных циклических адамантилфосфонатов уридина и природного 2',3'-циклофосфата уридина.

Экспериментальная часть

УФ-спектры измерены на спектрофотометре «Uniscam SP-800» (Англия) в спирте, ИК-спектры — на спектрофотометре UR-10 (ГДР) в таблетках с KBr, спектры КД — на дихрографе «Roussel-Jouan» (Франция) в спирте, масс-спектры — на приборе LKB-9000 при непосредственном введении вещества в ионный источник при температуре ионизационной камеры 50—200° и энергии ионизации 70 эВ. Спектры ЯМР сняты на приборе JNM-MH-100 (Япония), внутренний стандарт — тетраметилсилан. Электрофорез проводили на приборе для горизонтального электрофореза «Labor MIM OE-201» (Венгрия) в фосфатно-щелочном (pH 7,7) или боратном буфере (pH 9,2) при напряжении 900—1000 В. Для аналитической ТСХ использовали силуфол UV-254 в системе хлороформ — метанол (10 : 1); препаративную ТСХ проводили на пластинках (20 × 20 см) с силикагелем ЛСЛ₂₅₄ 5—40 мкм при толщине слоя 1 мм в системе хлороформ — метанол (10 : 1).

Диастереомерные 2',3'-O-(1-адамантил)фосфонаты 5'-O-ацетилуридина (IIb) и (IIIb). а) К раствору 0,5 г уридина (Ia) в 10 мл пиридина прибавляли 0,6 г AdPOCl₂ и нагревали при 37° в течение 4 сут. Реакционную смесь выливали в 100 мл ледяной воды, осадок 1-адамантилфосфоновой кислоты отделяли, водный раствор экстрагировали хлороформом (3 ×

× 30 мл). Объединенные экстракты упаривали в вакууме, следы пиридина и воды удаляли отгонкой с добавлением толуола. Получали 0,45 г смеси соединений (IIa) и (IIIa) (R_f 0,4 и 0,3), которую растворяли в 12 мл пиридина, прибавляли 0,5 мл уксусного ангидрида, выдерживали 24 ч при 20—22°, затем выливали в 120 мл воды и экстрагировали хлороформом (3 × 30 мл). Хлороформные экстракты упаривали в вакууме и остаток (0,4 г) разделяли при помощи ТСХ. Получали 0,20 г (43,5%) ацетата (IIб), R_f 0,65, $\lambda_{\text{макс}}$ 256 нм (ϵ 4400), и 0,08 г (17,4%) ацетата (IIIб), R_f 0,50, $\lambda_{\text{макс}}$ 255 нм (ϵ 7500).

б) Из 0,35 г соединения (Iб) [8] и 0,4 г AdPOCl_2 в условиях опыта а получали 0,27 г смеси ацетатов (IIб) и (IIIб). После разделения смеси при помощи ТСХ выделяли 0,12 г (21,5%) ацетата (IIб) и 0,05 г (9,0%) ацетата (IIIб).

2', 3'-O-(1-адамантил)фосфонаты 5'-фтор-5'-дезоксипуридина (IIв) и (IIIв). К раствору 0,20 г 5'-фтор-5'-дезоксипуридина (I в) [6] в 20 мл пиридина прибавляли 0,20 г AdPOCl_2 и оставляли при 37°. Через каждые 24 ч к реакционной смеси прибавляли свежую порцию AdPOCl_2 (3 × 0,10 г). Через 72 ч смесь выливали в 50 мл ледяной воды, раствор отфильтровывали и экстрагировали хлороформом (3 × 20 мл). Объединенные экстракты упаривали в вакууме, остатки пиридина и воды удаляли отгонкой с толуолом и остаток (0,3 г) разделяли при помощи ТСХ; получали 0,18 г (50,5%) фосфоната (II в), т. пл. 190° (метанол, разл.), R_f 0,60, $\lambda_{\text{макс}}$ 278 нм ([θ] 845), и 0,07 г (19,6%) фосфоната (III в), т. пл. 233—234° (метанол), R_f 0,51, $\lambda_{\text{макс}}$ 277 нм ([θ] 549).

Авторы выражают глубокую признательность проф. П. Лангену и д-ру Г. Коволлику (Центральный институт молекулярной биологии Академии наук ГДР) за предоставление 5'-фтор-5'-дезоксипуридина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Преображенская М. Н., Мельник С. Я., Олейник Д. М., Шепелева Е. С., Турчин К. Ф., Санин П. И. (1975) Биоорг. химия, 1, 277—278.
2. Индулен М. К., Кавель И. А., Дзегузе Д. Р., Рязанцева Г. М., Калниня В. А., Бубович В. И., Полис Я. Ю., Подинок И. В. (1974) в кн. Молекулярная биология вирусов, химиотерапия и химиопрофилактика вирусных инфекций, с. 45—48, Минск.
3. Stetter H., Last W.-D. (1969) Chem. Ber., 102, 3364—3366.
4. Blackburn V. J., Lapper R. D., Smith I. (1973) J. Amer. Chem. Soc., 95, 2873—2878.
5. Lapper R. D., Smith I. (1973) J. Amer. Chem. Soc., 95, 2880—2884.
6. Shütt M., Kowollik G., Etzold G., Langen P. (1972) J. Pract. Chem., 314, 251—256.
7. Verheyden J. P., Moffatt J. G. (1970) J. Org. Chem., 35, 2868—2877.
8. Brown D. M., Todd A. (1956) J. Chem. Soc., 2388—2393.

Поступила в редакцию
17.IX.1975

DIASTEREOMERIC URIDINE AND 5'-FLUORO-5'-DEOXYURIDINE 2', 3'-O-(1-ADAMANTHYL)PHOSPHONATES

PREOBRAZHENSKAYA M. N., MELNIK S. Ya., OLEINIK D. M.,
SHEPELEVA E. S., TURCHIN K. F., SANIN P. I.

*Cancer Research Center, Academy of Medical Sciences
of the USSR, A. V. Topchiev Institute of Petroleum Chemical
Synthesis, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

New cyclonucleotide analogs — uridine and 5'-fluoro-5'-deoxyuridine 2',3'-O-(1-adamantyl)phosphonates — have been prepared by the reaction of 1-adamantylphosphonic acid dichloride with uridine or 5'-fluoro-5'-deoxyuridine. It has been shown that in each case the mixture of two 2',3'-O-phosphonates, which have the different absolute configuration at P, is obtained. The isomers have been separated by chromatography, their structures being confirmed by UV-, IR-, CD-, and PMR spectroscopy data, as well as by electrophoresis and mass-spectrometry.