

АНАЛОГИ СПАРСОМИЦИНА

V. СИНТЕЗ β -D-РИБОФУРАНОЗИДА МЕТИЛОВОГО ЭФИРА
S-ДЕЗОКСО-(R_c)-СПАРСОМИЦИНА*

Р. Г. МЕЛИК-ОГАНДЖАНЫН и А. А. АРУТЮНЯН

Институт тонкой органической химии им. А.А.Мнджояна
НАН Республики Армения, Ереван

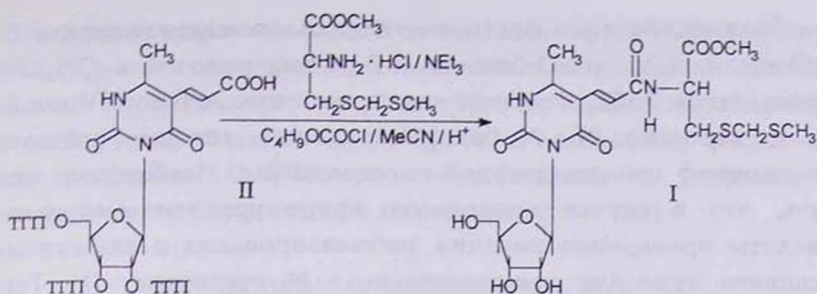
Поступило 9 VIII 1996

Осуществлено рибозилирование метилового эфира 2,4-бис(триметилсилилокси)-6-метилпиримидинил-5-акриловой кислоты 1-O-ацетокси-2,3,5-три-O-бензоил- β -D-рибофуранозой. Полученная смесь региоизомерных нуклеозидов разделена колоночной хроматографией. Снятием бензольных групп в остатке сахара, введением O-тетрагидропиранильной защиты с последующим щелочным гидролизом получено N₃- β -D-рибофуранозильное производное 6-метилурацилил-5-акриловой кислоты. Амидированием последней метиловым эфиром S-метилтиометил-(R_c)-цистеина впервые получен нуклеозидный аналог спарсомицина.

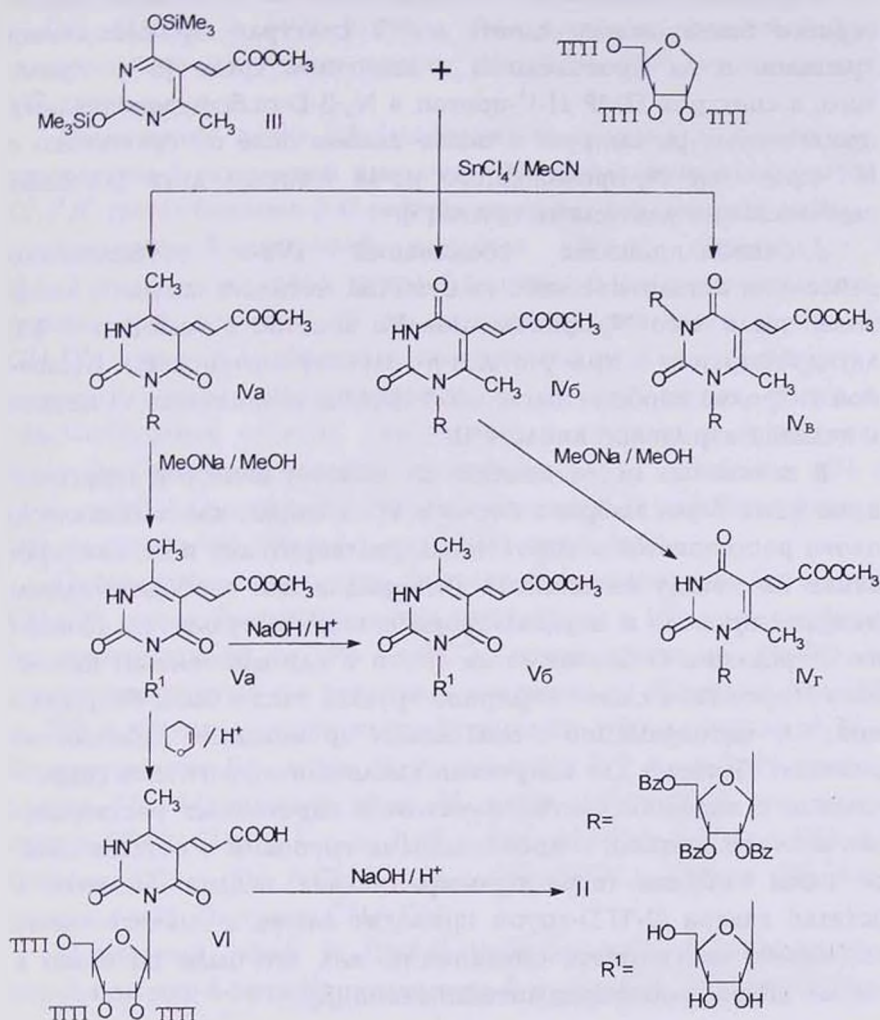
Табл. 1, библи. ссылок 9.

В продолжение исследований по синтезу новых аналогов природного антибиотика спарсомицина [1-4] нами получено β -D-рибофуранозильное производное I.

* Предыдущее сообщение этой серии см. [1].



Исходная N_3 -(2',3',5'-три-О-тетрагидропиранил- β -D-рибофуранозил)-2-4-диоксо-6-метилпиримидинил-5-акриловая кислота (II) синтезирована силильным методом по схеме:



Взаимодействием бис(триметилсилилоксипроизводного) III с 1-О-ацетил-2,3,5-три-О-бензоил-β-D-рибофуранозой в CH_3CN в присутствии SnCl_4 получена смесь трех нуклеозидов IV а-в (N_1 , N_3 и, вероятно, N_1 , N_3 -биспроизводного), которые разделены колоночной хроматографией на силикагеле. Необходимо отметить, что в случае метилового эфира урацилил-5-акриловой кислоты проведение реакции рибиллизирования в аналогичных условиях приводит исключительно к N_1 -нуклеозиду [1]. Такое влияние метильной группы в положении 6 пиримидинового ядра согласуется с данными других авторов по рибозилированию 6-метилурацила [5].

Строение соединений IVг, Va доказано на основании характерного батохромного сдвига в УФ спектрах N_3 -замещенных урацилов и их производных в щелочной среде [5-7]. Кроме того, в спектрах ПМР H-I^1 -протон в N_3 -β-D-рибофуранозильных производных резонирует в более слабом поле по сравнению с H-I^1 -протоном N_1 -производного из-за наличия двух соседних карбонильных лактамных групп [5].

Дебензоилирование соединений IVа-в осуществлено действием каталитического количества метилата натрия в метаноле, после чего N_3 -производное Va введено в реакцию с 2,3-дигидропираном в присутствии *п*-толуолсульфокислоты. Щелочной гидролиз карбометоксильной группы соединения VI привел к целевой акриловой кислоте II.

В начальных исследованиях по синтезу аналогов спарсомидина нами была выбрана кислота Vб, которая, как выяснилось, плохо растворяется в апротонных растворителях и ее амидирование по методу смешанных ангидридов или карбодиимидным методом привело к неудовлетворительным результатам. Попытка сохранения О-бензоильных групп с одновременным щелочным гидролизом сложноэфирной группы также была безуспешной, т.к. одновременно с омылением происходило дебензоилирование. Поэтому для получения кислотного фрагмента спарсомидина с хорошей растворимостью в апротонных растворителях и защищенными гидроксильными группами в остатке сахара нами выбрана тетрагидропиранильная защита. Наличие в остатке сахара О-ТГП-групп приводит также к значительному снижению токсичности соединений, как это было показано в случае антрациклиновых антибиотиков [8].

Амидированием кислоты II метиловым эфиром S-метилтио-метил-(R_c)-цистеина по методу смешанных ангидридов с использованием изобутилового эфира хлоругольной кислоты получено β-D-рибофуранозильное производное S-дезоксо-(R_c)-спарсомидина I. Снятие О-ТПП-групп осуществлено в метаноле в присутствии каталитического количества 0,1 N HCl.

Экспериментальная часть

ПМР спектры сняты на приборе "Varian T-60" с использованием ТМС или ГМДС в качестве внутреннего стандарта. УФ спектры сняты на приборе "Specord UV-VIS" в водном растворе NaOH (0,04%) и HCl (0,04%). Тонкослойная хроматография проведена на пластинках марки "Silutol UV-254", проявление в УФ свете.

Метиловый эфир 2,4-бис-(триметилсилилокси)-6-метилпиримидинил-5-акриловой кислоты (III) и метиловые эфиры N-(2¹,3¹,5¹-три-О-бензоил-β-D-рибофуранозил)-2,4-диоксо-6-метилпиримидинил-5-акриловой кислоты (IVa-в). Смесь 2,5 г (0,012 моля) метилового эфира 2,4-диоксо-6-метилпиримидинил-5-акриловой кислоты, 20 мл гексаметилдисилазана и 50 мл CH₃CN кипятят с обратным холодильником 2 ч, упаривают в вакууме досуха, переупаривают с 50 мл сухого толуола. Маслообразный остаток перегоняют в вакууме и к полученному бис(триметилсилилокси)производному III добавляют 5,04 г (0,01 моля) 1-О-ацетил-2,3,5-три-О-бензоил-β-D-рибофуранозы в 100 мл сухого CH₃CN и 1,5 мл (0,0125 моля) SnCl₄.

Оставляют на ночь при комнатной температуре. Отгоняют CH₃CN, маслообразный остаток растворяют в 100 мл хлороформа, промывают 50 мл 10% NaHCO₃, водой, сушат над Na₂SO₄ и хроматографируют на колонке с силикагелем (Kieselgel 100-150 m, 250 г). Элюированием хлороформом получают вначале N₁,N₃-биспроизводное IVв, затем N₁-производное IVб и далее N₃-производное IVa. Метиловый эфир III, т.кип. 158-160°C/2 мм рт.ст., спектр ПМР, CDCl₃, δ, м.д.: 0,34 с (3H, 4-OSiMe₃); 0,40 с (3H, 2-OSiMe₃); 2,25 с (3H, 6-CH₃); 3,74 с (3H, OCH₃); 7,12 кв (2H, АВ-спектр, J = 16 Гц, транс CH=CH).

Метиловый эфир N₃-(2¹,3¹,5¹-три-О-бензоил-β-D-рибофуранозил)-2,4-диоксо-6-метилпиримидинил-5-акриловой кислоты (IVa),

спектр ПМР, $\text{CDCl}_3 + \text{DMSO}-d_6$, δ , м.д.: 2,37 с (3H, 6- CH_3); 3,75 с (3H, COOCH_3); 4,63 уш.с (3H, 4^I-, 5^I-, 5^{II}-H); 6,15 уш.м (2H, 2^I-, 3^I-H); 6,79 уш.м (2H, 2^I-, 3^I-H); 6,79 уш.с (1H, 1^I-H); 6,99 д (1H, J=16 Гц, транс $\text{CH}=\text{CH}$); 7,19-8,11 м (16H, OBz, $\text{CH}=\text{C}$).

Метилловый эфир N_1 -(2²,3¹,5¹-три-О-бензоил- β -D-рибофуранозил)-2,4-диоксо-6-метилпиримидинил-5-акриловой кислоты (IVб), спектр ПМР, CDCl_3 , δ , м.д.: 2,49 с (3H, 6- CH_3); 3,78 с (3H, COOCH_3); 4,94 м (3H, 4^I-, 5^I-, 5^{II}-H); 5,89 д (1H, 1^I-H); 6,14 м (2H, 2^I-, 3^I-H); 7,02 д (1H, J=16 Гц, транс $\text{CH}=\text{CH}$); 7,14-8,16 м (16H, OBz, $\text{CH}=\text{C}$); 9,24 уш.с (1H, N_3 -H).

Метилловый эфир N_1, N_3 -бис-(2¹,3¹,5¹-три-О-бензоил- β -D-рибофуранозил)-2,4-диоксо-6-метилпиримидинил-5-акриловой кислоты (IVв), кристаллы с желтоватым оттенком, т.пл. 80-82°C, R_f 0,58 (этанол-хлороформ 2,5-97,5), выход 8,4%.

Соединения IVа-в перекристаллизовывают из смеси гексан- CHCl_3 (табл.).

Дебензоилированные производные IVг, Va. Суспендируют 5 ммоль соответствующего 2,3,5-три-О-бензоильного производного IVа,б в 30 мл сухого MeOH, добавляют 15 мл 0,5 М раствора метилата натрия, оставляют на ночь при комнатной температуре. Полученный раствор нейтрализуют ионообменной смолой DowexH+, фильтруют, отгоняют MeOH почти полностью.

Выпавший осадок фильтруют, промывают холодным этанолом, эфиром, перекристаллизовывают из метанола (табл.).

Метилловый эфир N_1 ,- β -D-рибофуранозил)-2,4-диоксо-6-метилпиримидинил-5-акриловой кислоты (IVг), спектр ПМР, D_2O , δ , м.д.: 2,56 с (3H, 6- CH_3); 3,80 с (3H, COOCH_3); 3,64-4,10 м (3H, 4^I-, 5^I-, 5^{II}-H); 4,41 т (1H, $\text{J}_3\text{I}_2\text{I}=\text{J}_3\text{I}_4\text{I}=6,5$ Гц, 3^I-H); 4,83 дд (1H, $\text{J}_2\text{I}_1\text{I}=3,3$ Гц, $\text{J}_2\text{I}_3\text{I}=6,5$ Гц, 2^I=H); 5,79 д (1H, $\text{J}_1\text{I}_2\text{I}=3,3$ Гц, 1^I-H); 6,73 д (1H, J=15,7 Гц, $\text{CH}=\text{C}$); 7,53 д (1H, J=15,7 Гц, $\text{CH}=\text{C}$). УФ спектр IVг (H_2O , $c=10^{-4}$); λ_{max} pH 5,300 нм (ϵ 36000), λ_{max} pH 12,306 нм (ϵ 31000), λ_{min} pH 5,233 нм, λ_{min} pH 12,245 нм.

Метилловый эфир N_3 ,- β -D-рибофуранозил)-2,4-диоксо-6-метилпиримидинил-5-акриловой кислоты (Va), спектр ПМР, D_2O , δ , м.д.: 2,49 с (3H, 6- CH_3); 3,78-4,22 м (3H, 4^I-, 5^I-, 5^{II}-H); 3,92 с (3H, COOCH_3); 4,55 дд (1H, $\text{J}_3\text{I}_2\text{I}=6,5$ Гц, $\text{J}_3\text{I}_4\text{I}=7,0$ Гц, 3^I-H); 4,86 дд (1H, $\text{J}_1\text{I}_2\text{I}=3,2$ Гц, $\text{J}_2\text{I}_3\text{I}=6,5$ Гц, 2^I=H); 6,38 д (1H, J=16 Гц, $\text{CH}=\text{C}$). УФ спектр Va (H_2O , $c=10^{-4}$); λ_{max} pH 5,300 нм (ϵ 45000), λ_{max} pH 12,336 нм (ϵ 64000), λ_{min} pH 5,234 нм, λ_{min} pH 12,257 нм.

Свойства соединений II-VI

Соединение	Выход, %	Т. пл., °C	R _f *	Найдено			Брутто-формула	Вычислено		
				C	H	N		C	H	N
II	91,7	123-126	0,85	57,64	6,49	5,21	C ₂₆ H ₄₀ N ₂ O ₁₁	57,92	6,94	4,82
IVa	39,0	207-208	0,63	63,90	5,00	3,80	C ₃₅ H ₃₀ N ₂ O ₁₁	64,22	4,62	4,28
IVб	32,0	114-115	0,66	64,90	4,57	4,18	C ₃₅ H ₃₀ N ₂ O ₁₁	64,22	4,62	4,28
IVг	60,0	182-183	0,73	48,25	5,50	8,65	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₈	49,12	5,30	8,18
Va	81,9	225-227	0,70	49,10	5,71	8,37	C ₁₄ H ₁₈ N ₂ O ₈	49,12	5,30	8,18
Vб	94,1	195-197	0,50	47,15	5,30	8,16	C ₁₃ H ₁₆ N ₂ O ₈	47,56	4,91	8,53
VI	92,2	88-90	0,78	57,92	6,20	4,32	C ₂₉ H ₄₂ N ₂ O ₁₁	58,57	6,61	4,71

* Системы:

II, VI — MeOH-CHCl₃, 1-4IVa,б — EtOH-CHCl₃, 5-95IVг, Va — EtOH-CHCl₃, 1-4

Vб — изопропанол-аммиак-вода, 7-1-2.

N₃-β-D-рибофуранозил)-2,4-диоксо-6-метилпиримидинил-5-акриловой кислоты (Vб). Растворяют 0,684 г (2 ммоль) метилового эфира Va в 6 мл 1 N NaOH и оставляют при комнатной температуре на 3 ч. Доводят pH до 5 добавлением AcOH и оставляют на ночь. Выпавшие кристаллы фильтруют, промывают водой, сушат, перекристаллизовывают из смеси метанол-вода (табл.).

Метиловый эфир N₃-(2¹,3¹,5¹-три-О-тетрагидропиранил-β-D-рибофуранозил)-2,4-диоксо-6-метилпиримидинил-5-акриловой кислоты (VIв). Смесь 3,42 г (0,01 моль) метилового эфира Va, 50 мг *m*-толуолсульфокислоты и 5,0 мл 2,3-дигидропирана в 50 мл ТГФ оставляют на ночь при комнатной температуре, прибавляют 5,0 г Na₂CO₃, перемешивают 3 ч и фильтруют. После упаривания раствора маслообразный остаток кристаллизуют гексаном. Спектр ПМР, CDCl₃, δ, м.д.: 1,64 уш.с (18H, 2¹-, 3¹-, 5¹-OCH₂(CH₂)₃CHO); 2,38 с (3H, 6-CH₃); 3,75 с (3H, COOCH₃); 4,38-5,10 (14H, 2¹-, 3¹-, 5¹-H, OCH₂(CH₂)₃CHO); 6,57 уш.с (1H, 1¹-H); 6,98 д (1H, J=16 Гц, транс CH=C); 7,48 д (1H, J=16 Гц, транс CH=C); 10,67 уш.с (1H, NH).

N₃-(2¹,3¹,5¹-три-О-тетрагидропиранил-β-D-рибофуранозил)-2,4-диоксо-6-метилпиримидинил-5-акриловой кислоты (II). Растворяют 5,94 г (0,01 моль) метилового эфира VI в 50 мл 2% NaOH при комнатной температуре и подкисляют AcOH до pH 5. Выделившееся масло экстрагируют бензолом (2×50 мл), промывают 50 мл воды, сушат над Na₂SO₄ и пропускают через воронку с силикагелем (L 5/40, ЧССР, 20 г).

После отгонки бензола маслообразный остаток кристаллизуют гексаном (табл.). Спектр ПМР, DMSO-d₆, δ, м.д.: 1,50 уш.с (18H, 2¹-, 3¹-, 5¹-OCH₂(CH₂)₃CHO); 2,28 с (3H, 6-CH₃); 3,00-4,80 (14H, 2¹-, 3¹-, 5¹-H, OCH₂(CH₂)₃CHO); 6,20 уш.с (1H, 1¹-H); 6,73 д (1H, J=16 Гц, транс CH=C); 7,38 с (1H, J=16 Гц, транс CH=C).

Метиловый эфир N-(N₃-β-D-рибофуранозил)-2,4-диоксо-6-метилпиримидинил-5)акрилоил/-S-метилтиометил-(R_c)-цистеина (II). К охлажденному до -10°C раствору 2,9 г (5 ммоль) кислоты II и 0,51 г (5 ммоль) триэтиламина в 50 мл CH₃CN прикапывают 0,69 г (5 ммоль) изобутилового эфира хлоругольной кислоты, оставляют на 10 мин при -10°C и добавляют охлажденную суспензию 1,16 г (5 ммоль) гидрохлорида метилового эфира S-метилтиометил-L-цистеина [9] и 0,51 г (5 ммоль) триэтиламина в

50 мл CH_3CN . Смесь помещают в холодильник при 0°C на 2 ч, оставляют на ночь при комнатной температуре. Отгоняют CH_3CN , остаток растворяют в 100 мл CCl_4 , промывают 5% NaHCO_3 , водой, сушат над Na_2SO_4 и фильтруют через воронку с силикагелем (L 5/40, ЧССР, 20 г). После упаривания CCl_4 остаток растворяют в 20 мл метанола, прибавляют 0,2 мл 1 N HCl , нагревают 10 мин и отгоняют метанол. Полученный маслообразный остаток хроматографируют на пластинках с силикагелем (Kieselgel 100-150 μ , 20×10 см, толщина слоя 2 мм, элюент метанол-хлороформ, 4/96), выделяют целевой продукт I.

Выход 2,0 г (79,2%), т.пл. $79-81^\circ\text{C}$, R_f 0,44 ($\text{MeOH}-\text{CHCl}_3$ [1-4]).

Спектр ПМР, $\text{DMCO}-d_6$, δ , м.д.: 2,11 с (3H, SCH_3); 2,33 с (3H, 6- CH_3); 3,00 уш.д (2H, CH_2S); 3,69 с (2H, SCH_2S); 3,80 с (3H, COOCH_3); 3,20-4,32 (5H, 2'-, 3'-, 5'-H); 4,53 м (1H, CHCH_2); 6,14 д (1H, 1'-H); 6,84 д (1H, $J=16$ Гц, транс $\text{CH}=\text{C}$); 7,48 с (1H, $J=16$ Гц, транс $\text{CH}=\text{C}$).

Работа финансировалась Международным научным фондом Дж. Сороса (грант №RYQ000), за что авторы выражают искреннюю благодарность Фонду и лично его Председателю.

ՍՊԱՐՍՈՄԻՅԻՆԻ ՆՄԱՆԱԿՆԵՐ

V: S-ԴԵՉՕՔՍՈ-(Rc)-ՍՊԱՐՍՈՄԻՅԻՆԻ ՄԵԹԻԼԷՍԹԵՐԻ β-D-ՌԻԲՈՖՈՐԱՆՈՋԻԴԻ ՍԻՆԹԵՉ

Ո. Գ. ՄԵԼԻԿ-ՕՂՆԱՋԱՆՅԱՆ և Ա. Ա. ՀԱՐՈՒԹՅՈՒՆՅԱՆ

Իրականացվել է 2,4-բիս(տրիմեթիլսիլիլիդօքսի)-6-մեթիլպիրիմիդինիլ-5-ակրիլաթթվի մեթիլէսթերի ռիբոզիլացումը 1-0-ացետօքսի-2,3,5-տրի-0-բենզոիլ-β-D-ռիբոֆուրանոզայով, ացետոնիտրիլում, SnCl_4 ներկայությամբ: Ստացված ռեզիդուները նուկլեոզիդների խառնուրդը բաժանվել է աշտարակային քրոմատոգրաֆիայով: Շաքարի մնացորդում բենզոիլ խմբի հեռացմամբ, 0-տետրահիդրոպիրանիլ պաշտպանիչ խմբի ներմուծմամբ և հետագա հիմնային հիդրոլիզով ստացվել է 6-մեթիլուրացիլիլ-5-ակրիլաթթվի N-β-D-ռիբոֆուրանոզիլածանցյալը: Վերջինիս ամրագմամբ S-մեթիլթրիոմեթիլ-(Rc)-ցիստինի մեթիլէսթերով առաջին անգամ սինթեզվել է սպարսոմիցինի նուկլեոզիդային նմանակը:

SPARSOMYCIN ANALOGUES V. SYNTHESIS OF S-DEOXO-(Rc)- SPARSOMYCIN METHYL ESTER OF β-D-RIBOFURANOSIDE

R. G. MELIK-OHANJANIAN and A. A. HARUTYUNIAN

In order to obtain the new synthetic derivatives of the natural antibiotic-sparsomycin the synthesis of S-deoxosparsomycin β-D-ribofuranoside was performed by silyl method.

By the reaction of 2,4-bis-trimethylsilyloxy derivative of methyl ester of 6-methyluracil-5-acrylic acid with 1-0-acetyl-2,3,5-tri-0-benzoyl β -D-ribofuranose in MeCN in the presence of SnCl_4 the corresponding protected nucleosides have been obtained. The mixture of N_1 , N_3 and N_1 , N_3 -bis regioisomers was separated by column chromatography on silica gel. N_3 - β -D-Ribofuranosyl derivative of 6-methyluracil-5-acrylic acid was prepared by debenzoylation of the starting N_3 -isomer nucleoside, followed by protection as O-THP-ethers and subsequent saponification.

The first nucleoside analogue of S-deoxosparosomycin was prepared by amidation of the key acrylic acid with (Rc)-S-methylthiomethylcysteine methyl ester by mixed method in the presence of isobutyl chloroformate.

The position of sugar moiety in the isomeric was found by investigation of their NMR and UV data in acidic and alkaline media. The N_3 -nucleosides (in contrast with corresponding N_1 -isomer) reveal the specific bathochromic shift in alkaline medium, which is in accordance with literature data on UV spectral data of N_3 and N_1 -substituted 6-methyluridines.

ЛИТЕРАТУРА

- [1] Мелик-Оганджян Р.Г., Арутюнян А.А., Мирзоян В.С., Мамян С.С., Степанян Г.М., Казарян Э.В., Саркисян Т.П. // Арм.хим.ж., 1995, т.48, №1-3, с.76.
- [2] Мелик-Оганджян Р.Г., Арутюнян А.А., Степанян Г.М., Арсенян Ф.Г., Гарибджанян Б.Т., Казарян Э.В., Тер-Захарян Ю.З., Пароникян Г.М., Саркисян Т.П. // Хим.-фарм.ж., 1988, т.22, №9, с.1095.
- [3] Арутюнян А.А., Мелик-Оганджян Р.Г., Алавердова Л.Г., Палоян С.А., Тер-Захарян Ю.З., Казарян Э.В., Пароникян Г.М., Саркисян Т.П. // Хим.-фарм.ж., 1989, т.23, №10, с.1223.
- [4] Арутюнян А.А., Мелик-Оганджян Р.Г., Степанян Г.М., Арсенян Ф.Г., Пароникян Г.М., Саркисян Т.П., Самвелян Т.П., Джанполадян Е.Г. // Арм.хим.ж., 1995, т.48, №1-3, с.70.
- [5] Niedballa U., Vorbruggen H. // J.Org.Chem., 1974, v.39, №11, p.3660.
- [6] Fox J.J., Shugar D. // Biochim. Biophys. Acta, 1952, v.9, p.109.
- [7] Prystas M., Sorn F. // Coll.Czech.Chem.Comm., 1969, v.34, №1, p.331.
- [8] Umezawa H., Takahashi Y., Kinoshita M., Naganawa H., Masuda T., Ishizuka M., Tatsuka K., Takeuchi T. // J. Antibiotics, 1979, v.32, №10, p.1082.
- [9] Dubois R.J., Lin C.C.L., Michel B.L. // J.Pharm.Sci., 1975, v.64, p.825.