

环状核苷酸衍生物的合成*

张礼和 马灵台 徐 成 董令娇 王 奇 王 序

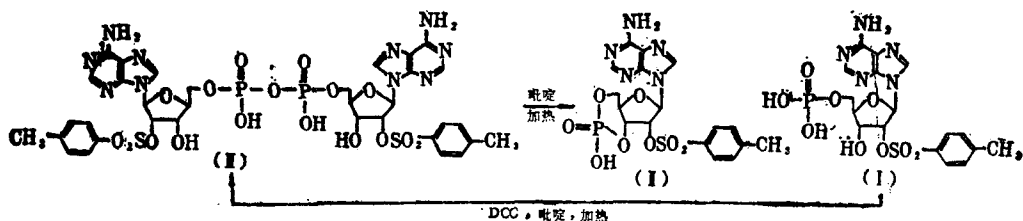
(北京医学院药理学)

2'-O-对甲苯磺酰基-c-AMP 以对甲苯磺酰氯或三苯基膦/四氯化碳作缩合剂,与不同醇或胺反应得到3',5'-环核苷酸磷酸酯或磷酰胺.以上化合物在乙二醇二甲醚中于-60°用 萘化钠或蒽化钠反应可以脱去对甲苯磺酰基,同时分离了这些磷酸酯或磷酰胺的立体异构体.

环状核苷酸磷酸酯和磷酰胺的合成方法虽有一些报导但都不够理想.我们曾报导过环磷酸部分反应活性很低, P—O 键很难断裂, 环核苷酸在有机溶剂中溶解度很小 也增加了合成中的困难^[1]. 为了更方便的获得各种环核苷酸的磷酸酯和磷酰胺, 以研究它们的生物活性, 本文报导了一个新的合成环核苷酸磷酸酯和磷酰胺的方法.

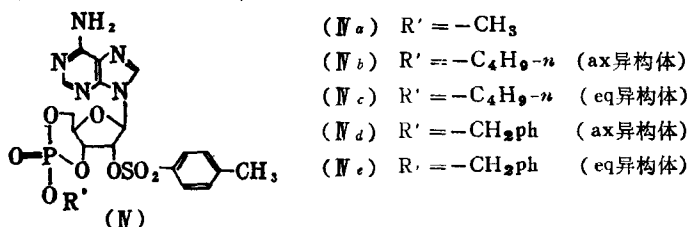
在前一篇简报中, 我们报导了5'-腺嘌呤核苷酸 (简称5'-AMP) 的2'-位羟基可以用对甲苯磺酰氯选择性的保护, 生成收率很高的 2'-O-对甲苯磺酰基-5'-腺嘌呤核苷酸(简称2'-Ts-5'-AMP)(I). 化合物(I)在二环己基碳二亚胺(DCC)作用下, 很容易环合生成2'-O-对甲苯磺酰基-3',5'-腺嘌呤环核苷酸(简称2'-Ts-c-AMP)(II). (II)在钠汞齐作用下, 脱去对甲苯磺酰基得到很好收率的腺嘌呤3',5'-环核苷酸(简称c-AMP)(22).

(I)的咪唑盐在无水吡啶中和 DCC 回流 20 分钟 可分离得到一个中间体(III), (III)在无水吡啶中加热可以生成(I)和(II). 而(I)在无水吡啶中再与 DCC 反应可以全部生成(II). (III)的电泳速度(0.48)介于(I)和(II)(0.67)之间, 根据核磁共振谱及以上数据, 我们认为化合物(III)为P,P'-二(2'-O-对甲苯磺酰基-腺嘌呤核苷)-5'-焦磷酸酯. 当(III)在吡啶中加热时发生分子内的环合反应生成(I)和(II), 而有 Dcc 存在时生成的(I)再转变成(III)而反复进行以上反应.

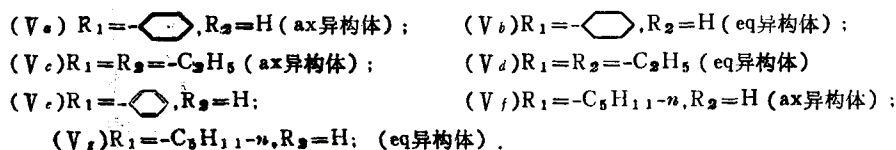
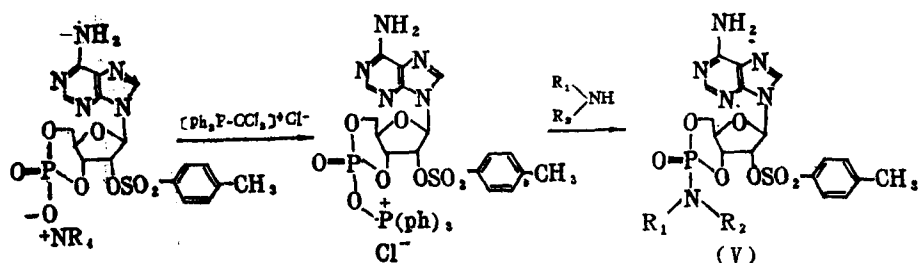
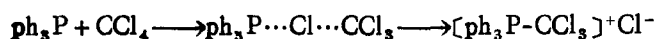


化合物(II)在有机溶剂中有较好的溶解度, 为了增加 P—O 键的亲核性进攻的能力, 我们使化合物(II)与季胺碱形成离子对, 再与对甲苯磺酸酯进行烷基化反应, 结果得

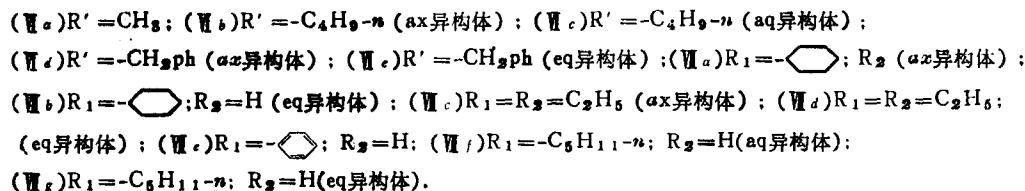
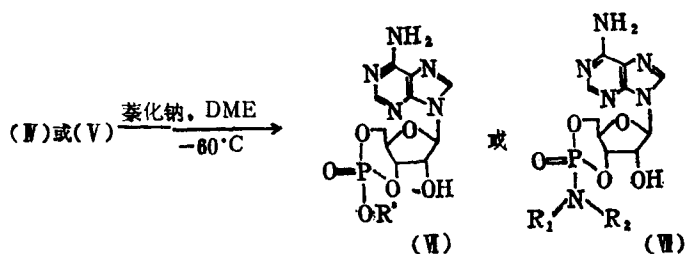
到相应的2'-O-对甲苯磺酰基-c-AMP的磷酸酯(IV)。



三苯基磷/四氯化碳试剂用于制备磷酸酯和磷酰胺已有报导^[3]。我们用此试剂制备环核苷酸的磷酰胺也获成功,收率达50—60%。反应可能通过以下过程:

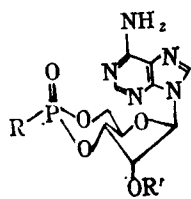


化合物(IV)和(V)在乙二醇二甲醚(DME)中于-60℃用萘化钠脱去对甲苯磺酰基,除(IV_d)和(IV_e)外都可以得到收率70—90%的(VI)和(VII)。

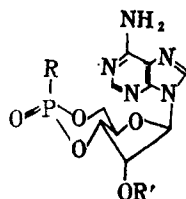


(IV_d)和(IV_e)以上条件反应时得到的为c-AMP,即在脱去2'-位对甲苯磺酰基的同时,也失去了苯基。但在改用萘化钠在-60℃反应,则得到c-AMP苯酯(VI_d)和(VI_e)。

化合物(IV)、(V)、(VI)和(VII)都含有手性的磷原子,在我们的实验中,除个别化合物外都已分离出一对立体异构体(ax和eq)。这些立体异构体的³¹P NMR显示ax异构



eq 异构体



ax 异构体

体中的 P 的化学位移都比相应的 eq 异构体出现在高场, 红外光谱中 $P=O$ 的伸缩振动频率 ax 异构体比 eq 异构体出现在短波方向, 这些都与文献报导的类似物的波谱特征一致[4,5], 说明环磷酸酯或环磷酸酰胺部分的构象都以椅式存在。

实 验 部 分

纸上电泳用新华中速层析滤纸 380V, 1.5 小时。电泳液用 0.1M 碳酸氢三乙胺溶液 (pH 7.8)。薄层层析用青岛海洋化工厂出品的硅胶 HF254 (薄层层析用)。以 0.5% CMC 水溶液作粘合剂。展开剂 A: 异丙醇: 浓氨水: 水 (7:1:2); B: 丁醇: 醋酸: 水 (5:2:3); C: 乙酸乙酯: 95% 乙醇 (3:1); D: 乙酸乙酯: 95% 乙醇 (9:1)。柱层析用青岛海洋化工厂出品的硅胶 (柱层析用 100—200 目)。减压浓缩均在外浴 40℃ 以下进行。紫外光谱用 UV-200 分光光度计。红外光谱用 IR-400 红外分光光度计。核磁共振谱用 FT-80A90 兆周仪器。质谱用 MAT731 质谱仪。

1. 2'-O-对甲苯磺酰基-腺嘌呤核苷-3',5'-环磷酸(II)

2'-O-对甲苯磺酰基-5'-腺嘌呤核苷酸 20 克, 12 克吗啡啉和 DCC 的加成物, 26 克 DCC 溶于 900 毫升无水吡啶中。回流 6 小时后蒸去吡啶, 残渣用水和乙醚混合液提取。分出水层用浓盐酸中和到 pH 5—6, 滤去一些胶状物。滤液继续中和到 pH 2 后, 于冰箱放置。过滤得白色结晶状(II), 收率 80—85%, 熔点 245° (分解)。薄层层析: $R_f(A)$ 0.71, (B) 0.69。UV $\lambda_{max}^{乙醇}$ 259nm。MS (m/e): 483 (M^+), ^{31}P NMR (δ): -2.34。

2. 2'-O-对甲苯磺酰基-腺嘌呤核苷-3',5'-环磷酸甲酯(IVa)。

1 克(II)用 10.4 毫升 5% 氢氧化四正丁胺甲醇溶液溶解, 减压蒸干, 残渣充分干燥后再溶于 30 毫升无水氯仿。在此溶液中加入 1 克对甲苯磺酸甲酯, 回流 4 小时, 减压蒸去溶剂。残渣溶于乙酸乙酯, 用硅胶柱层析, 以乙酸乙酯和 95% 乙醇混合液梯度洗脱得 0.4 克(IVa), 收率 40%。薄层层析: $R_f(C)$ 0.51, UV $\lambda_{max}^{乙醇}$ 259.5nm。元素分析 $C_{18}H_{24}N_5O_8PS \cdot C_2H_5OH$: 理论值%; N 12.89, P 5.70; 实验值%; N 13.25, P 5.55。

3. 2'-O-对甲苯磺酰基-腺嘌呤核苷-3',5'-环磷酸正丁酯(IVb)(IVc)

2 克(II)用 16.8 毫升 5% 氢氧化三乙基苄基胺甲醇溶液溶解, 减压蒸干。残渣充分干燥后溶于 30 毫升无水乙腈, 在此溶液中加入 2 克对甲苯磺酸正丁酯, 回流 16 小时。减压蒸去乙腈, 残渣用硅胶柱层析, 用乙酸乙酯和 95% 乙醇混合液梯度洗脱, 分别得(IVb)和(IVc)共 1.7 克, 收率 79% (ax:cq = 1:1)。

(IVb) 薄层层析: $R_f(D)$ 0.53, UV $\lambda_{max}^{乙醇}$ 260nm, MS (m/e) 539 (M^+), ^{31}P NMR (乙醇, δ) 6.79, 1H NMR ($CDCl_3$, δ) 0.95 (t, 3H, $-OCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.60 (m, 4H,

—OCH₂CH₂CH₂CH₃), 4.10 (m, 2H, —OCH₂CH₂CH₂CH₃). 元素分析 C₂₁H₂₆N₅O₈PS; 理论值: P 5.74%, 实验值: P 5.35%.

(IV_c) 薄层层析: R_f(D) 0.42, UVλ_{max}^{乙醇} 259nm, MS[m/e] 539(M⁺), ³¹P NMR (乙醇, δ) 4.94, ¹H NMR (CDCl₃, δ) 0.90 (t, 3H, —OCH₂CH₂CH₂CH₃), 1.73 (m, 4H, —DCH₂CH₂CH₂CH₃), 4.05 (m, 2H, —OCH₂CH₂CH₂CH₃). 元素分析 C₂₁H₂₆N₅O₈PS; 理论值 P 5.74%, 实验值: P 5.38%.

4. 2-O-对甲苯磺酰基-腺嘌呤核苷-3',5'-环磷酸苷酯 (IV_d)(IV_e)

1克(II)溶于8.4毫升氢氧化三乙基苄基胺甲醇溶液, 减压蒸去溶剂. 残渣充分干燥后溶于20毫升无水乙腈, 加入1克对甲苯磺酸苄酯. 50—60°搅拌17小时, 减压蒸去溶剂, 残渣用硅胶柱层析, 用乙酸乙酯和95%乙醇梯度洗脱, 分别得到(IV_b)和(IV_c)共0.3克, 收率26%(ax:eq = 1:1).

(IV_d) 薄层层析 R_f(D) 0.63, UVλ_{max}^{乙醇} 259nm, MS[m/e] 573(M⁺). 元素分析 C₂₄H₂₄N₅O₈PS; 理论值: P 5.40%, 实验值: P 5.10%.

(IV_e) 薄层层析 R_f(D) 0.48, UVλ_{max}^{乙醇} 259.5nm, MS[m/e] 573(M⁺). 元素分析: C₂₄H₂₄N₅O₈PS; 理论值: P 5.40%, 实验值: P 4.9%.

5. 2'-O-对甲苯磺酰基腺嘌呤核苷-3',5'-环磷酰环己胺 (V_a)(V_b)

1克(II)溶于10.4毫升5%氢氧化四正丁胺甲醇溶液, 减压蒸去溶剂. 残渣充分干燥后溶于10毫升二氯乙烷. 在此溶液中加入1克三苯基膦和0.7毫升四氯化碳反应液室温放置2小时, 再加入环己胺1毫升, 室温搅拌48小时. 减压蒸去溶剂, 残渣用硅胶柱层析, 用乙酸乙酯和95%乙醇梯度洗脱, 分别得到(V_a)和(V_b)共0.54克(ax:eq = 41:59).

V_a 薄层层析: R_f(D) 0.47, UVλ_{max}^{乙醇} 259.5nm. 元素分析 C₂₃H₂₉N₆O₇PS; 理论值 P 5.49%, 实验值: P 4.98%.

V_b 薄层层析: R_f(D) 0.31, UVλ_{max}^{乙醇} 259.5nm. 元素分析 C₂₃H₂₉N₆O₇PS; 理论值: P 5.49%, 实验值: P 4.98%.

6. 2'-O-对甲苯磺酰基-腺嘌呤核苷-3',5'-环磷酰二乙胺 (V_c)和(V_d)

1克(II)溶于10.4毫升5%氢氧化四正丁胺甲醇溶液, 减压蒸干, 残渣充分干燥后溶于10毫升二氯乙烷. 加入1克三苯基膦和0.7毫升四氯化碳, 室温放置2小时后加入1毫升二乙胺, 室温搅拌48小时. 减压蒸去部分溶剂, 残渣用硅胶柱层析, 用乙酸乙酯和95%乙醇梯度洗脱得0.3克V_d收率28%, V_c量极少. (V_d) 薄层层析: R_f(D) 0.47, UVλ_{max}^{乙醇} 259.5nm.

7. 2'-O'-对甲苯磺酰基-腺嘌呤核苷-3'-5'-环磷酰苯胺 (V_e)

1克(II)溶于10.4毫升5%氢氧化四正丁胺甲醇溶液, 减压蒸干. 残渣充分干燥后溶于10毫升二氯乙烷. 加入1克三苯基膦和1毫升四氯化碳. 室温放置1小时后加入1毫升苯胺, 室温反应20小时. 蒸除溶剂, 残渣用硅胶柱层析, 用乙酸乙酯和95%乙醇梯度洗脱得0.5克(V_e), 收率54%, 未分离出立体异构体. (V_e) 薄层层析: R_f(D) 0.47, UVλ_{max}^{乙醇} 259nm, MS[m/e]: 558(M⁺).

8. 2'-O-对甲苯磺酰基-腺嘌呤核苷-3',5'-环磷酸正戊胺(V_f)(V_g)

1 克(II)溶于10毫升5%氢氧化四正丁胺甲醇溶液,减压蒸干。残渣充分干燥后溶于10毫升二氯乙烷加入1.2克三苯基磷和0.7毫升四氯化碳,室温放置2小时后加入1毫升正戊胺,室温反应48小时。减压蒸除溶剂后残渣用硅胶柱层析,用乙酸乙酯和95%乙醇梯度洗脱得(V_f)和(V_g)共0.6克,收率55%(ax:eq=33:67)。

(V_f)薄层层析: $R_f(D)$ 0.38, $UV\lambda_{\max}^{\text{乙醇}}$ 259nm, 1H NMR ($CDCl_3$, δ) 0.91

$\overset{H}{(t, 3H, -NCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3)}$, 1.60(m, 6H, $-NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2.85(m, 2H, $-NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), ^{31}P NMR(δ) -6.26. 元素分析 $C_{22}H_{29}N_6O_7PS$: 理论值: P 5.61%, 实验值: P 5.30%。

(V_g)薄层层析: $R_f(D)$ 0.24, $UV\lambda_{\max}^{\text{乙醇}}$ 259nm, 1H NMR ($CDCl_3$, δ) 0.90(t, 3H, $-NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.67(m, 6H, $-NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), 2.85(m, 2H, $-NHCH_2CH_2CH_2CH_2CH_3$), ^{31}P NMR(δ) -9.16. 元素分析 $C_{22}H_{29}N_6O_7PS$: 理论值: P 5.61%, 实验值: P 5.30%。

以上化合物均经元素分析, 误差在允许范围之内。

9. 脱去对甲苯磺酰基的一般方法

2'-O-对甲苯磺酰基-腺嘌呤核苷-3',5'-环磷酸酯或环磷酸酰胺溶于20毫升的无水乙二醇二甲醚中(DME)(如溶解不好加入少量无水四氢呋喃),溶液用干冰丙酮冷到-78℃,在搅拌和氮气保护下,慢慢加入0.85M 萘化钠或蒽化钠的乙二醇二甲醚溶液。控制反应温度不超过-55°(随时用薄层层析检查使反应完全而萘化钠不过量)。反应完全后,反应液用10%醋酸中和到pH5—6,逐渐升温到室温,减压蒸除溶剂,残渣用硅胶柱层析,用乙酸乙酯和95%乙醇梯度洗脱即得腺嘌呤核苷3',5'-环磷酸酯和酰胺(VI)和(VII)。

(VI_a)薄层层析: $R_f(C)$ 0.41, $UV\lambda_{\max}^{\text{乙醇}}$ 259.5nm, 收率79%。

(VI_b)薄层层析: $R_f(D)$ 0.36, $UV\lambda_{\max}^{\text{乙醇}}$ 259nm, 收率98%。

1H NMR($DMSO-d_6$, δ): 0.90(t, 3H, $-OCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.50(m, 4H, $-OCH_2CH_2CH_2CH_3$), 4.05(m, 2H, $-OCH_2CH_2CH_2CH_3$)。

^{31}P NMR(δ): 5.71。

^{13}C NMR($DMSO-d_6$, δ): 152.9(C_2), 148.6(C_4), 118.8(C_5), 156.0(C_6), 139.9(C_8), 91.9($C_{1'}$), 71.3($C_{2'}$, $J_{C_2'P} = 7.6$ Hz), 69.9($C_{3'}$, $J_{C_3'P} = 7.4$ Hz), 77.3($C_{4'}$, $J_{C_4'P} = 4.21$ Hz), 68.0($C_{5'}$, $J_{C_5'P} = 6.6$ Hz), 69.0(C_a , $J_{CaP} = 7.8$ Hz), 31.7(C_b , $J_{CbP} = 6.4$ Hz), 18.2(C_c), 13.8(C_d)。

MS(m/e): 385(M^+)

(VII_c)薄层层析: $R_f(D)$ 0.23, $UV\lambda_{\max}^{\text{乙醇}}$ 260nm, 收率98%。

1H NMR($DMSO-d_6$, δ): 0.83(t, 3H, $-OCH_2CH_2CH_2CH_3$), 1.35(m, 4H, $-OCH_2CH_2CH_2CH_3$), 3.98(m, 2H, $-OCH_2CH_2CH_2CH_3$)。

^{31}P NMR(δ): 3.82。

^{13}C NMR ($DMSO-d_6$, δ): 153.1 (C_2), 148.9 (C_4), 119.0 (C_5), 156.2 (C_6),

140.1(C_8), 92.0($C_{1'}$), 71.3($C_{2'}$, $J_{C_{2'P}} = 7.8\text{Hz}$), 70.0($C_{3'}$, $J_{C_{3'P}} = 7.4\text{Hz}$), 77.7($C_{4'}$, $J_{C_{4'P}} = 4.4\text{Hz}$), 68.3($C_{5'}$, $J_{C_{5'P}} = 6.9\text{Hz}$), 69.3(C_a , $J_{C_{aP}} = 7.8\text{Hz}$), 31.9(C_b , $J_{C_{bP}} = 6.4\text{Hz}$), 18.7(C_c), 14.0(C_d). 丁基编号: $-\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{Cl}$.

MS(m/e): 385(M^+).

(VI_d)薄层层析: $R_f(D)$ 0.45, UV λ_{max} 260nm, 收率71%.

(VI_e)薄层层析: $R_f(D)$ 0.30, UV λ_{max} 260nm, 收率71%.

(VII_a)薄层层析: $R_f(C)$ 0.54, UV λ_{max} 259nm, 收率90%. MS(m/e): 410(M^+).

(VII_b)薄层层析: $R_f(C)$ 0.42, UV λ_{max} 259nm, 收率97%, MS(m/e): 410(M^+).

(VII_d)薄层层析: $R_f(C)$ 0.37, UV λ_{max} 259nm, 收率86%.

(VII_e)未能获得.

(VII_f)薄层层析: $R_f(D)$ 0.29, UV λ_{max} 259.5nm, 收率60%.

(VII_f)薄层层析: $R_f(C)$ 0.72, UV λ_{max} 259nm, 收率70%.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , δ): 0.90(t, 3H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.35(m, 6H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.90(m, 2H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

$^{31}\text{PNMR}(\delta)$: -7.43.

$^{13}\text{CNMR}$ (DMSO- d_6 , δ): 152.3(C_2), 148.6(C_4), 119(C_5), 156.0(C_6), 140.1(C_8), 92.0($C_{1'}$), 71.3($C_{2'}$, $J_{C_{2'P}} = 7.6\text{Hz}$), 70.8($C_{3'}$, $J_{C_{3'P}} = 8.0\text{Hz}$), 77.2($C_{4'}$, $J_{C_{4'P}} = 5.0\text{Hz}$), 68.5($C_{5'}$, $J_{C_{5'P}} = 8.0\text{Hz}$), 41.1(C_a), 30.9(C_b , $J_{C_{bP}} = 5.8\text{Hz}$), 28.3(C_c), 22.0(C_d), 14.0(C_e).

MS(m/e): 398(M^+).

(VII_g)薄层层析: $R_f(C)$ 0.59, UV λ_{max} 259.5nm, 收率70%.

$^1\text{H NMR}$ (DMSO- d_6 , δ): 0.83(t, 3H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 1.25(m, 6H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$), 2.75(m, 2H, $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$).

$^{31}\text{PNMR}(\delta)$: -8.39.

$^{13}\text{CNMR}$ (DMSO- d_6 , δ): 153.1(C_2), 149.0(C_4), 119.1(C_5), 156.2(C_6), 140.2(C_8), 92.3($C_{1'}$), 71.8($C_{2'}$, $J_{C_{2'P}} = 8.4\text{Hz}$), 71.0($C_{3'}$, $J_{C_{3'P}} = 4.6\text{Hz}$), 76.8($C_{4'}$, $J_{C_{4'P}} = 3.5\text{Hz}$), 68.0($C_{5'}$, $J_{C_{5'P}} = 7.8\text{Hz}$), 41.1(C_a), 31.0(C_b , $J_{C_{bP}} = 5.0\text{Hz}$), 28.8(C_c), 22.3(C_d), 14.7(C_e). 戊基编号: $-\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_3$.

MS(m/e): 398(M^+).

参 考 文 献

- [1] 王序、张礼和, 药学报, 15, 196 (1980).
[2] 张礼和、马灵台、王序, 化学通报, 12, 14 (1980).
[3] Appel, R., *et al.*, *Chem. Ber.*, 108, 2680 (1975).
[4] Engels, J., *et al.*, *J. Med. Chem.*, 20, 907 (1977).
[5] Gorenstein, D. G., *et al.*, *J. Am. Chem. Soc.*, 102, 5077 (1980).

(责任编辑: 刘敬义、李桂英)

The Syntheses of Derivatives of Nucleoside 3', 5'-Cyclic Phosphate

Zhang Lihe, Ma Lintai, Xu Chen, Dong Lingjiao, Wang Qi and **Wang Xu**

(Department of Pharmaceutical Sciences, Beijing Medical College, Beijing)

By using tosyl chloride or triphenyl phosphine/carbon tetrachloride as condensing reagents, 2'-tosyl c-AMP reacted with ROH or RNH₂ to give nucleoside 3', 5'-cyclic phosphotri-esters and phosphoramidates in 30—60% yield. Detosylation was carried out by using sodium naphthalene at -60°C in DME in 70—90% yield. The stereoisomers of these compounds have been separated and the structures have been identified by ¹H NMR, ¹³C NMR, ³¹P NMR and FDMS.