

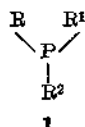
研究简报

腺嘌呤核苷的环磷酰化反应

吴劲昌** 王春光 张礼和*
(北京医科大学药学院, 北京)

腺嘌呤核苷 3', 5'-环磷酸 (c-AMP) 的磷酸衍生物可能作为 c-AMP 在体内的模拟物或贮存形式, 因此研究 c-AMP 磷酸衍生物的合成及其生物活性, 有可能为发现新药开辟途径^[1]. 作者曾报道 c-AMP 的磷酸酯和磷酰胺的合成, 并发现这类衍生物对肿瘤细胞的 DNA 和 RNA 的合成有较强抑制作用^[2]. 本文讨论了含有不同离去基团的三价磷试剂与 2'-保护的核苷反应, 可以直接环合生成各种核苷 3', 5'-环亚磷酸衍生物, 后者进一步与碘或硫反应可制备各种环磷酸或硫代环磷酸衍生物.

合成了以下三价磷试剂^[3]:



a R=OCH₃, R¹=N(C₂H₅)₂, R²=Cl; b R=OCH₃, R¹=N(CH₂CH₂)₂O, R²=Cl; c R=SC₂H₅, R¹=N(C₂H₅)₂, R²=Cl; d R=R¹=N(C₂H₅)₂, R²=Cl; e R=SC₂H₅, R¹=R²=N(C₂H₅)₂; f R=R¹=R²=N(C₂H₅)₂; g R=R¹=R²=SC₂H₅; h R=OCH₃, R¹=R²=N(C₂H₅)₂; i R=R¹=R²=OC₂H₅

1a~1d 与 2'-O-对甲苯磺酰基腺嘌呤核苷(2)在干燥氮气中室温反应, 生成的环亚磷酸中间体 3a~3c 不经分离直接与碘或硫反应, 分别得到 2'-O-对甲苯磺酰基腺嘌呤核苷 3', 5'-环磷酸酯(4)、环磷酸硫酯(5)、环磷酰胺(6)或 2'-O-对甲苯磺酰基腺嘌呤核苷 3', 5'-硫代环磷酸酯(7)、硫代环磷酸硫酯(8)、硫代环磷酰胺(9). 1e~1i 在同样条件下与 2 反应需要四氮唑催化, 生成相同中间体 3a~3c, 后者也可得到 4~9.

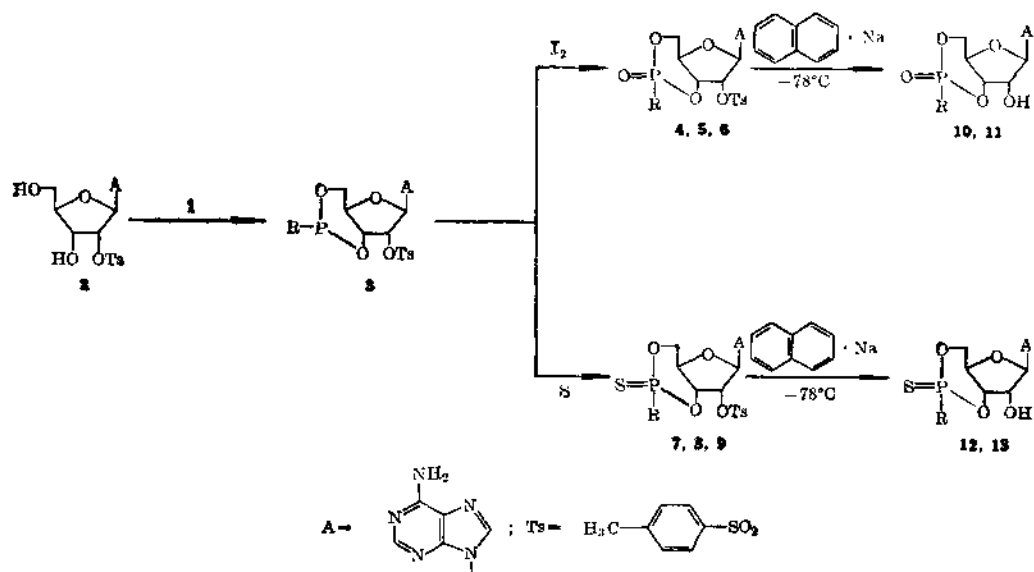
4, 6, 7, 9 在 -78℃ 用蔡化钠脱去对甲苯磺酰基得到 10, 11, 12, 13 的反应几乎定量进行, 但 5, 8 反应较复杂没有得到纯品.

所有以上化合物的结构都已通过 UV, NMR 及 MS 确证. 在 ³¹P NMR 谱中, 五价磷化合物化学位移都处于高场, 而分子中含有 P=S 键, 则化学位移向低场转移, 与一般磷化合物的情况相似.

当三价磷试剂中有 OCH₃ 及 N(C₂H₅)₂ 或 N(CH₂CH₂)₂O 时, 反应后得到 N(C₂H₅)₂ 或 N(CH₂CH₂)₂O 离去, 而甲氧基保留的产物. 在 SC₂H₅ 和 N(C₂H₅)₂ 存在时, 反应后得到 N(C₂H₅)₂ 离去, 乙硫基保留的产物. 我们也分别用 1i, 1f, 1g 与 2 在二氧杂环己烷中回流, 结果 1i 几乎不反应, 1f 和 1g 可以与 2 生成 3c 和 3b, 因此可见离去基团的能力为: P-N > P-S > P-O.

1985 年 2 月 6 日收到.

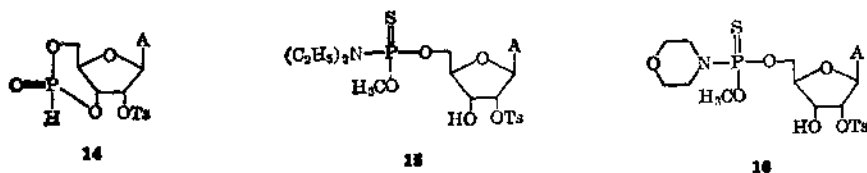
** 现在武汉医学院药学院.



3a $R = OCH_3$; 3b $R = SCH_2CH_3$; 3c $R = N(C_2H_5)_2$; 4 $R = OCH_3$; 5 $R = SC_2H_5$; 6 $R = N(C_2H_5)_2$; 7 $R = OCH_3$; 8 $R = SC_2H_5$; 9 $R = N(C_2H_5)_2$; 10 $R = OCH_3$; 11 $R = N(C_2H_5)_2$; 12 $R = OCH_3$; 13 $R = N(C_2H_5)_2$

作者曾报道 1f 与 2 在 $6 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1} \text{HCl}$ 作用下, 室温反应可以得到 40% 收率的 2'-O-对甲苯磺酰基腺嘌呤核苷 3', 5'-环亚磷酸(14)^[4], 而 1f 在二氧杂环己烷中与 2 回流得到的 3c 收率很低, 显然, 在反应中酸可以催化环亚磷酸化反应。我们用 ^{31}P NMR 谱对试剂 1a, 1b, 1h 与 2 的反应进行了研究。当 1a 或 1b 在核磁管中与 2 混合, 立即测 ^{31}P NMR, 发现 1a 或 1b 的吸收峰消失, 而在 $\delta 150 \text{ ppm}$ 处出现新的吸收峰。加入碘后 $\delta 150 \text{ ppm}$ 消失, 出现产物 $\delta -0.2 \text{ ppm}$ 的吸收峰, 显然 $\delta 150 \text{ ppm}$ 为 3a 的吸收峰。而 1h 在同样条件下 1h 后仍无 3a 的吸收峰出现。反应中加入四氮唑后则情况与上述反应相同。这说明亚磷酸酯类在反应中生成的 HCl 可催化环亚磷酸化反应, 而亚磷酸酯或酰胺类则要外加质子性试剂催化, 反应才能进行。

三价磷试剂中第一个离去基被核苷取代后, 第二个离去基可以被分子内的羟基或另一分子核苷的羟基进攻, 生成环亚磷酸衍生物或二核苷酸, 也可以因氧化而终止在开环产物阶段。15, 16 已从反应中分离得到。



核苷 3', 5'-环磷酸衍生物的合成报道不多, 收率也很低^[5]。因此本文提供了一条较方便的途径。

实 验

紫外光谱用 DU-7 型仪测定。核磁共振氢谱用 FX-90Q 型仪测定, TMS 内标; 磷谱用 FI-80A 型仪测定, 以 85% H_3PO_4 作标准, 化学位移值高场为负, 低场为正, 质谱用 MAT 771 型仪测定。

薄层层析及柱层析用青岛海洋化工厂出品的硅胶。薄层层析溶剂为氯仿-甲醇(A)2:1 (B)9:1, (C)20:1。

2'-O-对甲苯磺酰基腺嘌呤核苷3',5'-环磷酸酯(4), 环磷酸硫酸酯(5)和环磷酸酰胺(6)的合成

方法A 在干燥氮气保护下, 0.9g 2溶于15mL干燥DMF中, 加入0.75mL三正丁胺, 搅拌下室温慢慢加入0.25mL三价磷试剂(合成4时用1a或1b, 合成5时用1c, 合成6时用1d)。室温搅拌2h, 加入碘溶液(2:1THF-水)至碘不退色, 减压蒸除溶剂。残余物溶于氯仿, 用硅胶柱层析, 氯仿-甲醇梯度洗脱得4收率30%, 5收率15%, 6收率19%。

方法B 在干燥氮气保护下, 0.84g 2溶于15mL干燥DMF, 加入0.42g四氮唑, 搅拌下慢慢加入0.25mL三价磷试剂(合成4用1b, 合成5用1c, 合成6用1f)。40℃搅拌5h, 同方法A用碘处理及柱层析分离得4收率25%, 5收率19%, 6收率19%。

4 $R_f(A)$ 0.30. $\lambda_{max}(CH_3OH)$: 261nm. $\delta_H(CDCl_3)$: 2.20(3H, s, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 3.6(3H, d, $J=11$ Hz, $POCH_3$), 3.95(2H, m, 5'-CH), 4.05(1H, m, 4'-CH), 4.25(1H, m, 2'-CH), 5.45(1H, t, 3'-CH), 6.03(1H, d, 1'-CH), 6.98(2H, d, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 7.28(2H, d, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 7.97(1H, s, 8-CH), 8.06(1H, s, 2-CH)ppm. δ_P : -0.2ppm. m/z : 482($M^+ - CH_3$).

5 $R_f(C)$ 0.27. $\lambda_{max}(CH_3OH)$: 260.5nm. $\delta_H(CDCl_3)$: 1.30(3H, t, $PSCH_2CH_3$), 2.35(3H, s, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 2.90(2H, q, $PSCH_2CH_3$), 4.35(2H, m, 5'-CH), 4.50(1H, m, 4'-CH), 4.70(1H, m, 2'-CH), 5.69(1H, t, 3'-CH), 6.15(1H, d, 1'-CH), 7.05(2H, d, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 7.60(2H, d, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 7.95(1H, s, 8-CH), 8.15(1H, s, 2-CH)ppm. δ_P : 31.06ppm. m/z : 498($M^+ - C_2H_5$).

6 $R_f(C)$ 0.33. $\lambda_{max}(CH_3OH)$: 259.5nm. $\delta_H(CDCl_3)$: 1.05[6H, t, $PN(CH_2CH_3)_2$], 2.25(3H, s, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 2.86[4H, m, $PN(CH_2CH_3)_2$], 4.12(2H, m, 5'-CH), 4.45(1H, m, 4'-CH), 5.8(1H, m, 2'-CH), 6.2(1H, t, 3'-CH), 6.25(1H, m, 1'-CH), 7.1(2H, d, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 7.5(2H, d, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 8.04(1H, s, 8-CH), 8.15(1H, s, 2-CH)ppm. δ_P : 10.70ppm. m/z : 538(M^+).

2'-O-对甲苯磺酰基腺嘌呤核苷5',3'-硫代环磷酸酯(7), 硫代环磷酸硫酸酯(8)和硫代环磷酸酰胺(9)的合成 合成方法同前方法A, 但反应后不用碘氧化, 而改用加1g硫磺粉室温搅拌2h, 过滤后同前法处理, 7收率41.9%, 8收率26%, 9收率33%。

7 $R_f(C)$ 0.33. $\lambda_{max}(CH_3OH)$: 261nm. $\delta_H(CDCl_3)$: 2.40(3H, s, $PCH_3C_6H_4SO_2$), 3.84(3H, d, $POCH_3$), 4.20(2H, m, 5'-CH), 4.38(1H, m, 4'-CH), 4.78(1H, m, 2'-CH), 5.52(1H, t, 3'-CH), 6.18(1H, m, 1'-CH), 6.40(2H, s, NH_2), 7.10(2H, d, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 7.56(2H, d, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 8.04(1H, s, 8-CH), 8.14(1H, s, 2-CH)ppm. δ_P : 77.01ppm. m/z : 513(M^+).

8 $R_f(C)$ 0.41. $\lambda_{max}(CH_3OH)$: 260nm. $\delta_H(CDCl_3)$: 1.30(3H, t, $p-SCH_2CH_3$), 2.4(3H, s, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 3.05(2H, m, $PSCH_2CH_3$), 4.45(2H, m, 5'-CH), 4.50(1H, m, 4'-CH), 4.75(1H, m, 2'-CH), 5.80(1H, t, 3'-CH), 6.25(1H, d, 1'-CH), 7.16(2H, d, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 7.60(2H, d, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 8.16(1H, s, 8-CH), 8.24(1H, s, 2-CH)ppm. δ_P : 96.88ppm. m/z : 544($M^+ + 1$).

9 $R_f(C)$ 0.54. $\lambda_{max}(CH_3OH)$: 261.5nm. $\delta_H(CDCl_3)$: 1.04[6H, t, $PN(CH_2CH_3)_2$], 2.35(3H, s, $p-CH_3C_6H_4SO_2$), 2.86[4H, m, $PN(CH_2CH_3)_2$], 4.25(2H, m, 5'-CH), 4.44

(1H, m, 4'-OH), 4.80 (1H, m, 2'-OH), 5.80 (1H, m, 3'-OH), 6.25 (1H, m, 1'-OH), 7.15 (2H, d, $p\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2$), 7.56 (2H, d, $p\text{-CH}_3\text{C}_6\text{H}_4\text{SO}_2$), 8.2 (1H, s, 8-OH), 8.24 (1H, s, 2-OH) ppm. δ_{P} : 77.60 ppm. m/z : 554 (M^+).

腺嘌呤核苷 3', 5'-环磷酸酯(10)、环磷酸胺(11)和 3', 5'-硫代环磷酸酯(12)、硫代环磷酸胺(13)的合成 4, 6, 7 或 9 溶于乙二醇二甲醚中, 外用干冰丙酮冷却, 在氮气保护下, 搅拌滴加 $0.85 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ 羧化钠的乙二醇二甲醚溶液, 控制 $< -60^\circ\text{C}$, 反应完全后加入 10% 醋酸调节至 pH 5~6, 慢慢升温到室温, 蒸除溶剂, 残余物用乙酸乙酯提取, 提取物用硅胶柱层析, 乙酸乙酯-乙醇梯度洗脱, 产物几乎定量。

10 和 11 与作者前文得到的一致^[2]。

12 $R_{\text{f}}(\text{B}) 0.47$, $\delta_{\text{H}}(\text{CDCl}_3)$: 3.6 (3H, d, POCH_3), 4.3 (3H, m, 4'-CH, 5'-OH), 4.60 (1H, m, 2'-OH), 4.9 (1H, t, 3'-OH), 6.1 (1H, d, 1'-OH), 8.2 (1H, s, 8-OH), 8.3 (1H, s, 2-OH) ppm. δ_{P} : 76.07 ppm.

13 $R_{\text{f}}(\text{C}) 0.45$, $\delta_{\text{H}}(\text{CDCl}_3)$: 1.1 [6H, t, $\text{PN}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$], 3.2 [4H, m, $\text{PN}(\text{CH}_2\text{CH}_3)_2$], 4.1~4.2 (3 H, m, 4'-OH, 5'-OH), 4.7 (1H, m, 2'-OH), 5.2 (1H, m, 3'-OH), 6.05 (1H, s, 1'-OH), 7.95 (1H, s, 8-OH), 8.1 (1H, s, 2-OH) ppm. δ_{P} : 74.30 ppm.

本工作系中国科学院科学基金资助的课题。

参 考 文 献 和 注 释

- [1] Amer, M. S., "Advance in Drug Research", Vol. XII, ed. by Harper, N. J., Simmonds, A. B., Academic Press, London, 1977, p. 1.
- [2] 张礼和, 马灵台, 徐成, 董令娇, 李长林, 单立新, 王序, 葛韵琴, 张孙曦, 贺师鹏, 科学通报, 1984, 29, 820.
- [3] (a) Beaucage, S. L.; Caruthers, M. H., *Tetrahedron Lett.*, 1981, 22, 1859; (b) Dorper, T.; Winnacker, E. L., *Nucleic Ac. Res.*, 1983, 11, 2676; (c) Stuebe, C.; Lankelma, H. P., *J. Am. Chem. Soc.*, 1956, 78, 976; (b) Lippert, A.; Reid, E. E., *J. Am. Chem. Soc.*, 1938, 60, 2370; (e) 试剂 1a, 1b, 1h 未见文献报道, 作者用类似以上文献方法合成 1a, b. p. 110~111°C/10Torr, δ_{P} 171 ppm; 1a b. p. 114~115°C/13Torr, δ_{P} 120 ppm; 1h b. p. 105~106°C/20Torr, δ_{P} 133 ppm.
- [4] 张礼和, 马灵台, 王序, 化学通报, 1980, 718.
- [5] Bentrude, W. G.; Tomasz, J., *Synthesis*, 1984, 27.

The Cyclophosphorylation of Adenosine

Wu Jin-Chang Wang Chun-Guang Zhang Li-He*

(School of Pharmaceutical Sciences, Beijing Medical University Beijing)

Abstract

A series of phosphite reagents were reacted with 2'-O-tosyl adenosine to give derivatives of 2'-O-tosyl adenosine 3', 5'-cyclophosphite. After treatment with iodine or sulfur, it was converted to derivatives of 2'-O-tosyl adenosine 3', 5'-cyclophosphate or 2'-O-tosyl adenosine 3', 5'-cyclothiophosphate respectively. The tosyl group can be removed easily by sodium naphthalide at -78°C . The mechanism of cyclophosphorylation was discussed.