

• 研究论文 •

含长碳烷基核苷氢亚磷酸酯衍生物的合成与表征

奚才明^a 孙笑宾^{*,a} 肖强^b 赵玉芬^c 施小新^a
桂斌^a 任玉杰^a

(^a华东理工大学化学系 上海 200237)

(^b江西科技师范学院有机功能分子研究所 南昌 330013)

(^c清华大学生命有机磷化学和化学生物学教育部重点实验室 北京 100084)

摘要 通过将抗病毒药物核苷(3'-叠氮-2',3'-二脱氧胸苷 AZT 或 2',3'-二脱氢-2',3'-二脱氧胸苷 d4T)与三氯化磷反应,然后在不同的醇解试剂作用下,一锅法合成得到 6 个含长链烷基的核苷氢亚磷酸二酯衍生物,并采用 ³¹P NMR, ¹H NMR, ¹³C NMR 和 ESI-MS 对其结构进行了表征.

关键词 3'-叠氮-2',3'-二脱氧胸苷; 2',3'-二脱氢-2',3'-二脱氧胸苷; 核苷氢亚磷酸酯; 磷酸酯衍生物; 抗 HIV

Syntheses and Characterization of Long-chain Alkyl Nucleoside H-Phosphonate Derivatives

XI, Cai-Ming^a SUN, Xiao-Bin^{*,a} XIAO, Qiang^b ZHAO, Yu-Fen^c
SHI, Xiao-Xin^a GUI, Bin^a REN, Yu-Jie^a

(^a Department of Chemistry, East China University of Science and Technology, Shanghai 200237)

(^b Institute of Organic & Functional Molecules, Jiangxi Normal College of Science and Technology, Nanchang 330013)

(^c Key Laboratory of Bioorganic Phosphorus and Chemical Biology of Education of Ministry, Tsinghua University, Beijing 100084)

Abstract Six long-chain alkyl H-phosphonate derivatives of 3'-azido-2',3'-dideoxythymidine (AZT) and 2',3'-didehydro-2',3'-dideoxythymidine (d4T) were synthesized via one-pot reaction of AZT and d4T with phosphorus trichloride and different alcoholysis reagents in sequence. The products were characterized by ³¹P NMR, ¹H NMR, ¹³C NMR and ESI-MS.

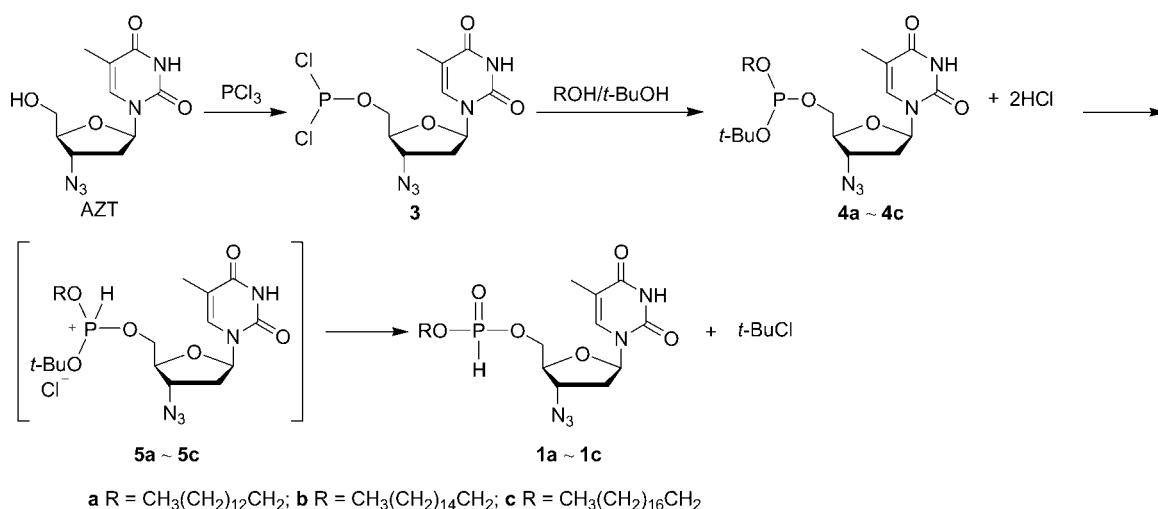
Keywords AZT; d4T; nucleoside H-phosphonate; phosphate derivative; anti-HIV

对具有抗病毒活性的核苷逆转录酶抑制剂(NRTIs) 3'-叠氮-2',3'-二脱氧胸苷(AZT)和 2',3'-二脱氢-2',3'-二脱氧胸苷(d4T)的 5'-位羟基进行单磷酸化结构修饰是目前抗艾滋病(AIDS)病毒药物筛选的一个研究热点^[1]. 研究发现,单磷酸化后的药物核苷衍生物进入细胞体内后,避开了药物分子作用机制中的单磷酸化步骤,因而降低了药物分子的毒副作用,提高了其抗病毒活性^[1a~1c,2,3]. 其中 AZT 氢亚磷酸酯和 d4T 氢亚磷酸酯就是这样一类化

合物,有文献报道,这类化合物的抗艾滋病病毒活性明显高于母体核苷,而细胞毒性则低于母体分子,目前已有一些化合物进入临床试验阶段^[4]. 因而简单合成并研究这类化合物对新药的筛选和发现具有重要的意义. 我们曾用二苯基氢亚磷酸酯通过酯交换法合成了含长脂链的 AZT 氢亚磷酸酯和 d4T 氢亚磷酸酯^[5]. 本文我们介绍用类 Abuzov 反应一锅法合成这类化合物的新方法(图式 1).

* E-mail: sunxb@ecust.edu.cn

Received November 27, 2006; revised January 4, 2007; accepted February 9, 2007.



图式 1 AZT 氢亚磷酸二酯的合成路线

Scheme 1 The synthesis of H-phosphate diester of AZT

1 实验部分

1.1 仪器与试剂

³¹P NMR (以 85% H₃PO₄ 为外标)、¹H NMR 和 ¹³C NMR (以 TMS 为内标)均使用 Bruker DPX400 核磁共振仪测定, 溶剂为 CDCl₃. ESI-MS 用 Bruker Esquire-LC 质谱仪测定. 二氯甲烷和三氯甲烷加入无水氯化钙干燥过夜后直接使用; 三乙胺均用氢氧化钾回流 5 h 后蒸馏; 十四碳醇、十六碳醇、十八碳醇、叔丁醇、三氯化磷等未经处理直接使用. 以上试剂均为分析纯.

1.2 合成

核苷氢亚磷酸酯合成通法:

搅拌条件下, 向冰浴冷却的装有 1.38 g (10 mmol) 三氯化磷的 50 mL 的单口烧瓶中分批加入 1 mmol 核苷 (AZT 或 d4T), 加入 10 mL 干燥的二氯甲烷溶剂. 反应体系在 0 °C 左右反应 1 h 后, 自然升至室温继续反应 6 h. 旋蒸除去溶剂及过量的三氯化磷, 真空泵抽干, 发现有泡状固体产生. 接着用 10 mL 干燥的三氯甲烷搅拌溶解固体, 冰浴条件下将 2.5 mmol 醇解试剂的 5 mL 三氯甲烷溶液慢慢滴入其中, 0 °C 搅拌 30 min, 室温搅拌过夜. 将 202 mg (2 mmol) 三乙胺的 5 mL 三氯甲烷溶液于 0 °C 缓慢滴入上述反应体系中. 10 min 后蒸除溶剂, 硅胶柱层析分离 [V(二氯甲烷): V(甲醇)=20:1], 得到目标化合物.

1.2.1 3'-叠氮-2',3'-二脱氧胸苷(AZT)-5'-氢亚磷酸十四碳醇酯(以 R=CH₃(CH₂)₁₂CH₂ 为例)1a 的合成

以核苷 AZT 为起始原料, 十四碳醇和叔丁醇(1:1, 摩尔比)的混合物为醇解试剂, 按以上合成通法, 得 354

mg 白色泡状固体 1a, 产率 67%, ³¹P NMR (CDCl₃, 200 MHz) δ: 8.27, 8.69; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 0.86 (t, 3H, CH₃), 1.18~1.33 (m, 22H, 11×CH₂_{tetradecyl}), 1.67~1.69 (m, 2H, CH₂CH₂O), 1.92 (s, 3H, 5-CH₃), 2.37~2.43 (m, 2H, 2'-H), 3.90~4.06 (m, 1H, 4'-H), 4.10~4.13 (m, 2H, CH₂CH₂O), 4.30~4.36 (m, 3H, 3'-H, 5'-H), 6.11~6.27 (m, 1H, 1'-H), 7.35 (s, 1H, 6-H), 6.05, 7.76 (d, J=684 Hz, 1H, P-H), 9.93 (br, 1H, N-H); ¹³C NMR (CDCl₃, 100 MHz) δ: 11.51 (C_{Me}), 13.13 (C_{5-Me}), 21.68, 24.44, 28.07, 28.34, 28.46, 28.53, 28.63, 29.34, 29.40, 30.90 (12×C_{tetradecyl}), 36.35 [C(2')], 59.02 [C(3')], 63.33 (C_{CH₂CH₂O}), 65.71 [C(5')], 81.13 [C(4')], 84.06 [C(1')], 110.60, 110.53 [C(5)], 134.47, 134.37 [C(6)], 149.44 [C(2)], 163.07 [C(4)]; ESI-MS m/z: 528 (M+H)⁺.

以十六碳醇、十八碳醇代替十四碳醇, 用同样的方法得到化合物 1b 和 1c, 产率分别为 55% 和 52%. 波谱数据分别见表 1 和表 2.

1.2.2 2',3'-双脱氢-2',3'-双脱氧胸苷(d4T)-5'-氢亚磷酸十四碳醇酯 2a (以 R=CH₃(CH₂)₁₂CH₂ 为例)的合成

以核苷 d4T 为起始原料, 十四碳醇和叔丁醇(1:1, 摩尔比)的混合物为醇解试剂, 按以上合成通法, 得 226 mg 白色泡状固体 2a, 产率 47%, ³¹P NMR (CDCl₃, 162 MHz) δ: 8.18, 8.56; ¹H NMR (CDCl₃, 400 MHz) δ: 0.86 (t, 3H, CH₃), 1.21~1.31 (m, 22H, 11×CH₂_{tetradecyl}), 1.60~1.76 (m, 2H, CH₂CH₂O), 1.91 (s, 3H, 5-CH₃), 4.07~4.11 (m, 2H, CH₂CH₂O), 4.25~4.30 (m, 2H, 5'-H), 4.88~5.03 (m, 1H, 4'-H), 5.93~5.99 (m, 1H, 2'-H), 6.25~6.41 (m, 1H, 3'-H), 6.92~7.09 (m, 1H, 1'-H), 7.30 (s, 1H, 6-H),

5.94, 7.73 (d, $J=716$ Hz, 1H, P-H), 9.37 (br, 1H, N-H);
 ^{13}C NMR (CDCl_3 , 100 MHz) δ : 11.35, 11.43 (C_{Me}), 13.12
($\text{C}_{5\text{-Me}}$), 21.67, 24.43, 28.07, 28.34, 28.46, 28.53, 28.63,
29.39, 29.24, 30.90 ($12 \times \text{C}_{\text{tetradecyl}}$), 64.42 ($\text{C}_{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}}$),
65.40 [C(5')], 83.52 [C(4')], 88.51, 88.62 [C(1')], 110.27
[C(5)], 126.76, 126.83 [C(2')], 131.88, 131.98 [C(3')],

134.75, 134.82 [C(6)], 149.95 [C(2)], 162.90 [C(4)];
ESI-MS m/z : 485 ($\text{M}+\text{H}$)⁺, 507 ($\text{M}+\text{Na}$)⁺.

以十六碳醇、十八碳醇代替十四碳醇, 用同样的方法得到化合物 **2b** 和 **2c**, 产率分别为 50% 和 51%. 波谱数据分别见表 1 和表 2.

表 1 化合物 **1b**, **1c**, **2b** 和 **2c** 的 ^{31}P NMR 和 ESI-MS 数据
Table 1 ^{31}P NMR and ESI-MS spectral data of compounds **1b**, **1c**, **2b** and **2c**

Compd.	R	^{31}P NMR δ	ESI-MS m/z	
			($\text{M}+\text{H}$) ⁺	($\text{M}+\text{Na}$) ⁺
1b	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2$	8.20, 8.83	556	
1c	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_2$	8.17, 8.79	584	
2b	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{14}\text{CH}_2$	8.21, 8.61	513	535
2c	$\text{CH}_3(\text{CH}_2)_{16}\text{CH}_2$	8.20, 8.58	541	

表 2 化合物 **1b**, **1c**, **2b** 和 **2c** 的 ^1H NMR 和 ^{13}C NMR 数据
Table 2 ^1H NMR and ^{13}C NMR spectral data of compounds **1b**, **1c**, **2b** and **2c**

Compd.	^1H NMR δ	^{13}C NMR δ
1b	0.88 (t, 3H, CH_3), 1.12~1.29 (m, 26H, $13 \times \text{CH}_2$ _{hexadecyl}), 1.61~1.78 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.94 (s, 3H, 5- CH_3), 2.33~2.45 (m, 2H, 2'-H), 3.92~4.08 (m, 1H, 4'-H), 4.11~4.15 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.31~4.37 (m, 3H, 3'-H, 5'-H), 6.20~6.23 (m, 1H, 1'-H), 7.36 (s, 1H, 6-H), 6.04, 7.80 (d, $J=704$ Hz, 1H, P-H), 9.57 (br, 1H, N-H)	11.51 (C_{Me}), 13.12 ($\text{C}_{5\text{-Me}}$), 21.68, 24.45, 28.07, 28.35, 28.46, 28.53, 28.67, 29.34, 29.40, 30.90 ($14 \times \text{C}_{\text{hexadecyl}}$), 36.38 [C(2')], 59.00 [C(3')], 63.21, 63.27 ($\text{C}_{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}}$), 65.71 [C(5')], 81.17 [C(4')], 84.03 [C(1')], 110.56, 110.63 [C(5)], 134.27, 134.39 [C(6)], 149.31 [C(2)], 162.83 [C(4)]
1c	0.81 (t, 3H, CH_3), 1.11~1.30 (m, 30H, $15 \times \text{CH}_2$ _{octadecyl}), 1.62~1.64 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.88 (s, 3H, 5- CH_3), 2.27~2.37 (m, 2H, 2'-H), 3.73~3.76 (m, 1H, 4'-H), 4.00~4.06 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.21~4.29 (m, 3H, 3'-H, 5'-H), 6.12~6.18 (m, 1H, 1'-H), 7.33 (s, 1H, 6-H), 5.95, 7.73 (d, $J=712$ Hz, 1H, P-H), 9.43 (br, 1H, N-H)	11.50 (C_{Me}), 13.12 ($\text{C}_{5\text{-Me}}$), 21.68, 24.44, 28.07, 28.47, 28.54, 28.68, 29.41, 30.9 ($16 \times \text{C}_{\text{octadecyl}}$), 36.41 [C(2')], 58.97 [C(3')], 63.30 ($\text{C}_{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}}$), 65.75 [C(5')], 81.13 [C(4')], 84.03 [C(1')], 110.61 [C(5)], 134.28 [C(6)], 149.09 [C(2)], 162.57 [C(4)]
2b	0.87 (t, 3H, CH_3), 1.10~1.26 (m, 26H, $13 \times \text{CH}_2$ _{hexadecyl}), 1.66~1.70 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.91 (s, 3H, 5- CH_3), 4.06~4.11 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.27~4.30 (m, 2H, 5'-H), 4.94~5.10 (m, 1H, 4'-H), 5.92~5.96 (m, 1H, 2'-H), 6.33~6.34 (m, 1H, 3'-H), 6.96~7.11 (m, 1H, 1'-H), 7.28 (s, 1H, 6-H), 5.96, 7.72 (d, $J=704$ Hz, 1H, P-H), 9.43 (br, 1H, N-H)	11.36, 11.44 (C_{Me}), 13.13 ($\text{C}_{5\text{-Me}}$), 21.67, 24.43, 28.07, 28.35, 28.46, 28.53, 28.67, 29.33, 30.90 ($14 \times \text{C}_{\text{hexadecyl}}$), 64.41 ($\text{C}_{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}}$), 65.42 [C(5')], 83.52 [C(4')], 88.51, 88.62 [C(1')], 110.30 [C(5)], 126.78, 126.85 [C(2')], 131.85, 131.95 [C(3')], 134.75 [C(6)], 149.97 [C(2)], 162.95 [C(4)]
2c	0.87 (t, 3H, CH_3), 1.11~1.26 (m, 30H, $15 \times \text{CH}_2$ _{octadecyl}), 1.66~1.70 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 1.91 (s, 3H, 5- CH_3), 4.00~4.16 (m, 2H, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$), 4.21~4.36 (m, 2H, 5'-H), 4.92~5.09 (m, 1H, 4'-H), 5.78~5.89 (m, 1H, 2'-H), 6.32~6.34 (m, 1H, 3'-H), 7.01~7.08 (m, 1H, 1'-H), 7.30 (s, 1H, 6-H), 5.92, 7.72 (d, $J=720$ Hz, 1H, P-H), 9.43 (br, 1H, N-H)	11.36, 11.44 (C_{Me}), 13.12 ($\text{C}_{5\text{-Me}}$), 21.68, 24.43, 28.08, 28.35, 28.47, 28.54, 28.68, 29.39, 30.90 ($16 \times \text{C}_{\text{octadecyl}}$), 64.40 ($\text{C}_{\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}}$), 65.30, 65.41, 65.47 [C(5')], 83.52 [C(4')], 88.51, 88.61 [C(1')], 110.30 [C(5)], 126.78, 126.85 [C(2')], 131.84, 131.95 [C(3')], 134.73, 134.79 [C(6)], 149.97 [C(2)], 162.93 [C(4)]

2 结果与讨论

2.1 合成

核苷氢亚磷酸二酯的合成方法通常有以下三种. (1) 通过核苷磷酸二酯在 1*H*-四氮唑的水溶液中水解制备得到^[6]; (2) 通过核苷氢亚磷酸单酯在缩合剂的存在下和另外一分子羟基化合物进行缩合获得^[7]; (3) 通过二苯基氢亚磷酸酯的连续酯交换法生成^[5,8]. 然而这三种方法均为多步合成, 操作繁琐, 分离较为困难, 产率不高, 因此上述路线对于合成目标产物不理想. 本文采用类 Abuzov 反应, 一锅法简单方便地合成了这类核苷氢亚磷酸二酯, 其反应机理与 Abuzov 反应类似. 以 AZT 氢亚磷酸二酯的合成为例, 如图式 1, 核苷 AZT 与三氯化磷生成二氯代亚磷酸核苷 **3**, 然后 **3** 与由摩尔比为 1:1 的长链脂肪醇和叔丁醇组成的醇解试剂反应生成 AZT 亚磷酸三酯 **4**, 同时 **4** 与反应中生成的一分子氯化氢反应形成准磷盐中间体 **5**, 并发生分子内重排, 由于叔碳离子的稳定性大于伯碳离子, 因而与磷相连的碳氧键的断裂发生在叔丁基取代基上, 这也是我们为什么选用含有叔丁醇的混合醇为醇解试剂的原因, 因此 **5** 分子内脱去一分子氯代叔丁烷而形成目标产物 **1**.

2.2 波谱性质

在目标化合物的 ³¹P NMR 谱中, 由于磷原子连有的四个不同基团为手性磷, 所以化合物为一对非对映异构体, 在谱图中显示双峰. 在 ¹H NMR 谱中, 与磷直接相连的氢原子, 由于磷的耦合, 将其裂分为两部分, ³¹P-¹H 耦合常数约为 704 Hz.

References

- (a) Wagner, C. R.; Iyer, V. V.; McIntee, E. J. *Med. Res. Rev.* **2000**, *20*, 417.
(b) Anastasi, C.; Quelever, G.; Bulet, S.; Garino, C.; Souard, F.; Kraus, J. L. *Curr. Med. Chem.* **2003**, *10*(18), 1825.
(c) Venkatachalam, T. K.; Samuel, P.; Qazi, S.; Uckun, F. M. *Eur. J. Med. Chem.* **2005**, *40*(5), 452.
(d) Aquaro, S.; Calio, R.; Balzarini, J.; Bellocchi, M. C.; Garaci, E.; Perno, C. F. *Antiviral Res.* **2002**, *55*, 209.
- (a) De Clercq, E. *Med. Res. Rev.* **2002**, *22*, 531.
(b) Chang, S. L.; Griesgraber, G. W.; Southern, P. J.; Wagner, C. R. *J. Med. Chem.* **2001**, *44*, 223.
- Wu, Y.-W.; Jiang, Y.-Y.; Fu, H.; Yang, J.; Zhao, Y.-F. *Chin. J. Org. Chem.* **2003**, *23*(10), 1091 (in Chinese). (吴耀文, 蒋宇扬, 付华, 杨杰, 赵玉芬, 有机化学, **2003**, *23*(10), 1091.)
- (a) Parang, K.; Wiebe, L. I.; Knaus, E. E. *Curr. Med. Chem.* **2000**, *7*(10), 995.
(b) Prokrovsky, A. G.; Pronayeva, T. R.; Fedjuk, N. V.; Shirokova, E. A.; Khandzhinskaya, A. L.; Tarusova, N. B.; Karpenko, I. L.; Krayevsky, A. A. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids* **2001**, *20*(4~7), 767.
(c) Cardona, V. M. F.; Ayi, A. I.; Aubertin, A. M.; Guedj, R. *Antiviral Res.* **1999**, *42*, 189.
(d) Egron, D.; Imbach, J. L.; Gosselin, G. A.; Aubertin, M.; Perigaud, C. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids* **2003**, *22*(5~8), 895.
- Xiao, Q.; Sun, J.; Ju, Y.; Zhao, Y. F.; Cui, Y. X. *Tetrahedron Lett.* **2002**, *43*(30), 5281.
- Padiya, K. J.; Salunkhe, M. M. *Bioorg. Med. Chem.* **2000**, *8*, 337.
- Stawinski, J. *Handbook of Organophosphorus Chemistry*, Marcel Dekker Inc., New York, **1992**, pp. 377~434.
- (a) Kers, A.; Kers, I.; Kraszewski, A.; Sobkowski, M.; Szabo, T.; Thelin, M.; Zain, R.; Stawinski, J. *Nucleosides Nucleotides* **1996**, *15*, 361.
(b) Cardona, V. M. F.; Ayi, A. I.; Aubertin, A. M.; Guedj, R. *Antiviral Res.* **1999**, *42*, 189.

(A0611275 CHENG, B.; ZHENG, G. C.)