

## ФТОРНУКЛЕОЗИДЫ: СИНТЕЗ, БИОЛОГИЯ И ПРИМЕНЕНИЕ В МЕДИЦИНЕ

Г.Г. Сивец, Е.Н. Калиниченко

*Институт биоорганической химии НАН Беларуси, Минск, Республика Беларусь*

### Введение

Исследования в области химии, биохимии и фармакологии фтордезоксинуклеозидов являются одним из наиболее актуальных направлений современной биоорганической и медицинской химии компонентов нуклеиновых кислот в виду очевидных достижений по поиску терапевтически значимых нуклеозидных аналогов [1, 2]. Наличие атома фтора в молекуле нуклеозида оказывает влияние на его химические, физические и биологические свойства. Рядом исследователей на примерах органических соединений различных классов наблюдались некоторые общие аспекты этого влияния:

1) атом фтора может имитировать атомы водорода метиленового фрагмента молекулы благодаря сравнительному размеру с сохранением субстратных свойств фтораналогов органических соединений в отношении активных центров ферментов и основных путей их метаболизма.

2) замена гидроксильной группы на атом фтора приводит только к незначительным стерическим изменениям молекулы в виду схожести длины и полярности С-О и С-Ф связей, способности галогена выступать в качестве слабого акцептора водородной связи и приводит к увеличению окислительной и термической стабильности.

3) высокая электроотрицательность атома фтора оказывает сильный электронный эффект на соседние функциональные группы органической молекулы, ее химические и физические свойства в целом.

4) присутствие атома фтора часто ведет к увеличению липофильности и адсорбции молекулы и ее транспорта *in vivo*, и в конечном итоге к улучшению терапевтического эффекта, фармакологической активности биологически активных соединений различных классов.

5) использование  $^{19}\text{F}$  ЯМР-спектроскопии является важным инструментом для определения и подтверждения структуры сложных органических соединений.

Установлено, что введение атома фтора в биологически активную молекулу нуклеозида может влиять не только на ее фармакокинетические свойства, но и на распределение в тканях, путь и скорость метаболизма фтораналога, а также ее фармадинамику и токсикологию [3]. Все эти факторы и успехи в создании лекарственных препаратов на основе нуклеозидных аналогов определяют интерес к медицинской химии фторированных нуклеозидов в течение нескольких десятилетий [4–7].

В 1957 году Хейделбергер и соавторы получили 5-фторурацил (5FU, **1**) (рисунок 1) фторированием урацила газообразным фтором и показали, что это соединение обладает высокой противоопухолевой активностью, которая обусловлена ингибированием тимидилатсинтетазы [8, 9].

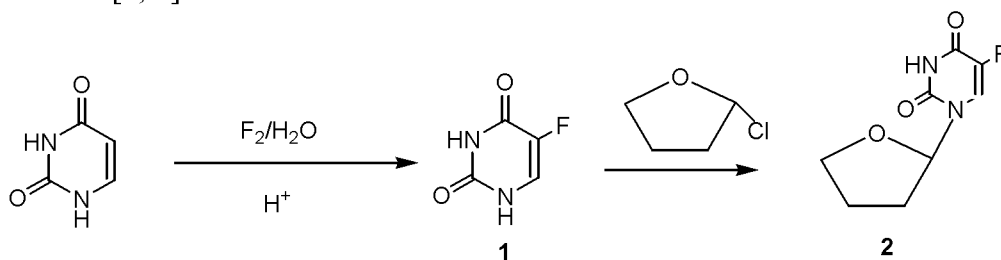


Рисунок 1

Позднее для преодоления побочных токсичных эффектов 5-фторурацила реакцией конденсации его бистриметилсилильного производного с 2-хлортетрагидрофураном был получен структурный аналог фторафур (2), который обладает меньшей токсичностью и используется, так же как и 5-FU, в современной медицинской практике в качестве эффективного противоопухолевого средства (рисунок 1) [10]. Эти результаты явились отправным моментом для будущих обширных исследований по поиску эффективных фторирующих агентов и синтезу фторпроизводных различных классов соединений, в том числе и фторнуклеозидов, с потенциальной противоопухолевой и противовирусной активностью.

К настоящему времени разработаны два основных типа агентов (рисунок 2) для введения атома фтора в молекулу углевода или нуклеозида: нуклеофильные реагенты, содержащие фторид-ион в качестве донора, например, DAST (*N,N*-диэтилсульфотрифторид) (3) или его более стабильный аналог, деоксофтор (4), которые используются для замены OH-группы на атом фтора; электрофильные реагенты, NFSI (*N*-фторбензолсульфонамид) (5) и селектофтор (6), среди которых последний, как наиболее активный и стабильный фторирующий реагент этого типа, широко используется для электрофильного фторирования двойных связей сахаров и гетерооснований [4].

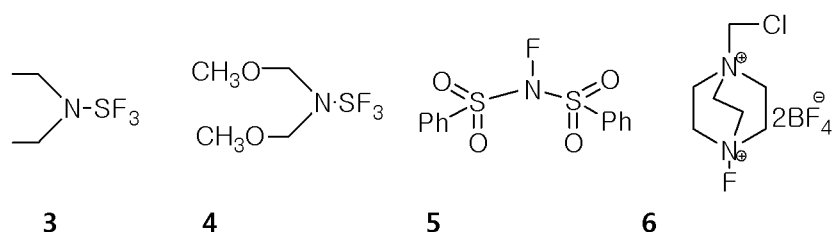


Рисунок 2

Положение атома фтора в углеводном фрагменте нуклеозида является решающим фактором для проявления им потенциального биологического эффекта и возможного медицинского применения фтордезоксинуклеозидного аналога. Фторированные нуклеозиды обладают необычными стереоэлектронными свойствами, что в свою очередь приводит к ограничениям конформационного равновесия молекулы и, как следствие, к смещению его в сторону одной предпочтительной конформации пентофуранозного кольца *N*- или *S*-типа.

Основные модификации, которые привели к обнаружению фторпроизводных нуклеозидов с биологической активностью, включают замены в 2'- и 3'-положениях дезоксифуранозного цикла и гетероциклическом основании [4, 5, 7].

В настоящей работе рассмотрены некоторые современные достижения в области синтеза фторнуклеозидов, изучения их биологических свойств и стереохимических особенностей, поиска и создания химиотерапевтических препаратов среди этого класса труднодоступных соединений.

### 2',3'-Дидезокси- и 3'-дезоксидезокси-3'-фторрибонуклеозиды

3'-Дезокси-3'-фтортимидин (FLT, 8) впервые синтезирован Лангеном с выходом 34% раскрытием ангидроцикла O<sup>2</sup>,3'-ангидротимидина (7) с использованием смеси фтористого водорода и AlF<sub>3</sub> в водном диоксане [11].

Позднее, Хердевин и соавторы получили 3'-дезоксидезокси-3'-фтортимидин с суммарным выходом 62% нуклеофильным введением атома фтора в *трео*-нуклеозид 9 с использованием DAST и последующим деблокированием тритильного производного нуклеозида 8 (рисунок 3) [12].

FLT обладает высокой активностью в отношении вируса иммунодефицита человека (ВИЧ-1) и является более эффективным ингибитором обратной транскриптазы ВИЧ, чем азидотимидин, но и более токсичным [13]. Несмотря на этот факт, FLT остается потенциальным антивирусным агентом в ВИЧ-терапии и в настоящее время его фосфолипидное производное 11 находится на стадии клинических испытаний [14].

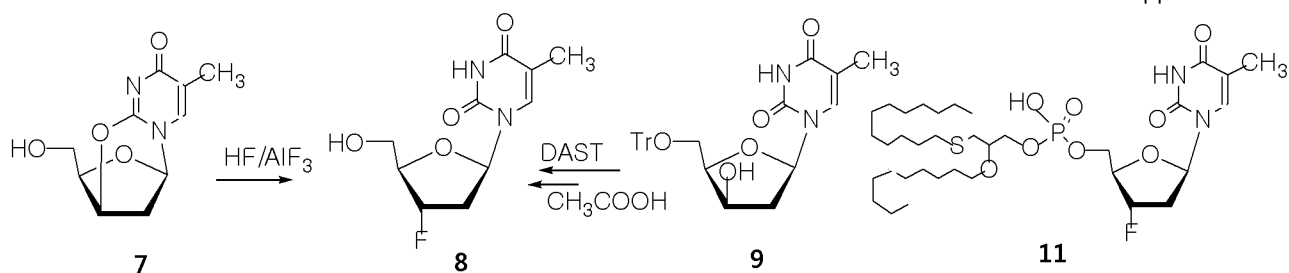


Рисунок 3

Конвергентный синтез FLT (**8**) осуществлен из фтордезоксисахара **14**, полученного с использованием стереоспецифичной миграции бензоильной группы в условиях радикального гидродегалогенирования промежуточного бромида **13** и последующего восстановления промежуточных радикальных продуктов гидридом трибутиллолова в толуоле, и 2,4-бис(триметилсилил)тимина (рисунок 4) в присутствии триметилсилилтрифлата (TMSOTf) [15]. В результате реакции конденсации получена смесь  $\beta$ - и  $\alpha$ -аномеров (2,7:1) промежуточных нуклеозидов с суммарным выходом 88%, из которой 5'-О-бензоильное производное FLT было выделено с выходом 64%. Стандартное деблокирование последнего приводило к целевому нуклеозиду.

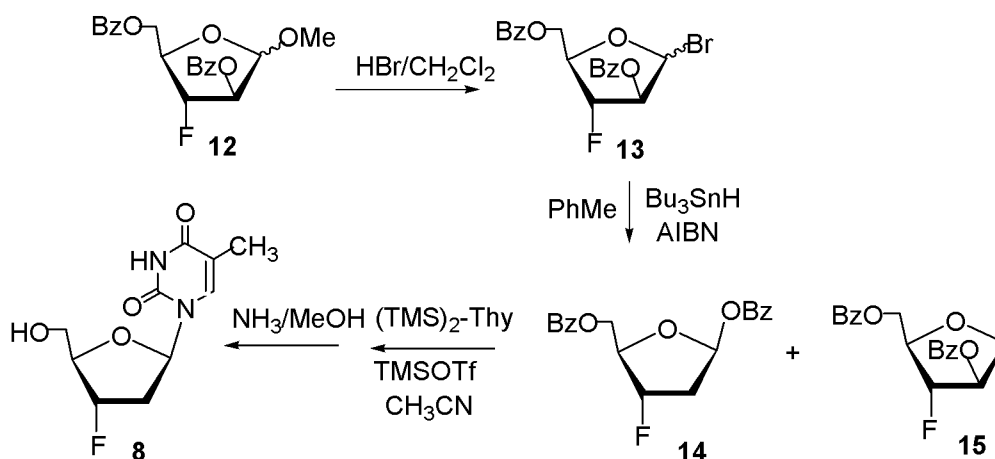


Рисунок 4

Пуриновые 3'- $\alpha$ -фтор-2',3'-дидезоксинуклеозиды синтезированы с использованием различных подходов и их биологические свойства детально изучены. Первый синтез гуанинового нуклеозида был осуществлен из 5'-О-ацетил-3'-дезоксидезокси-3'-фтортимидина (**16**) методом химического трансгликозилирования, который при использовании N<sup>2</sup>-пальмитоилгуанина приводил к смеси N<sup>9</sup>- $\beta/\alpha$ - и N<sup>7</sup>- $\beta/\alpha$ -аномеров и суммарный выход целевого N<sup>9</sup>- $\beta$ -нуклеозида **17** составил 14% (рисунок 5) [16]. Установлено, что 3'- $\alpha$ -фтор-2',3'-дидезоксигуанозин (FddG, **17**) обладает цитостатической активностью в тестах *in vitro*.

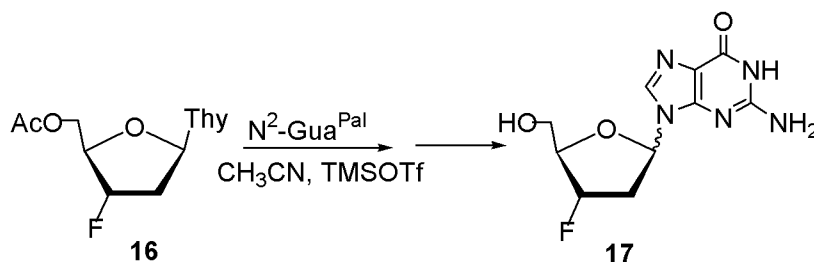


Рисунок 5

Другой подход к FddG был исследован исходя из гуанозина (17) (рисунок 6). Ключевой стадией предложенного метода является фторирование дитритильного производного 8,2'-тиоангидронуклеозида **20** через образование промежуточного сульфониевого иона **21** [17]. Реакция нуклеозида **20** с перфторбутансульфонилфторидом (NfF) в присутствии *N,N*-диизопропилэтиламина в качестве основания давала 3'- $\alpha$ -фтор нуклеозид **22** с выходом 91%. Десульфурелизация нуклеозида **22** на никеле Ренея в толуоле и удаление тритильных защитных групп уксусной кислотой приводили к FddG (**17**) с выходом 40%. 3'- $\alpha$ -Фтор-2',3'-дидезоксигуанозин (**17**) показал высокую активность в отношении ВИЧ и гепатита В на культурах клеток, и представляет наибольший практический интерес среди пуриновых фторнуклеозидов этого класса [18, 19]. В настоящее время валилокси-пропионильное производное FddG (лагоцикловир, **24**) по С-5' атому может быть разрешено к применению в ВИЧ-терапии после завершения клинических испытаний [14].

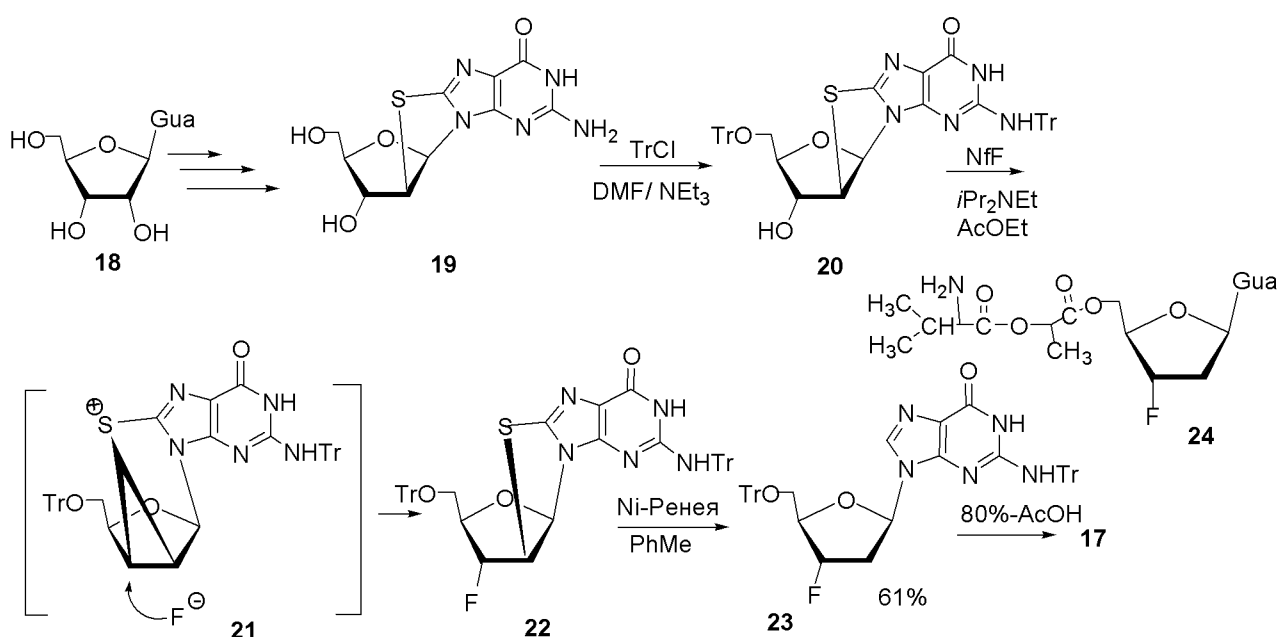


Рисунок 6

Простой путь синтеза к 3'- $\alpha$ -фтор-2',3'-дидезоксиаденозину (FddA, **30**) был разработан из аденозина (**25**) (рисунок 7) [20]. 2',5'-Ди-О-ацетил-3'- $\beta$ -бром-3'-дезоксиаденозин (**26**) получен обработкой ацетиллом бромистым в ацетонитриле промежуточного полуацетала аденозина.

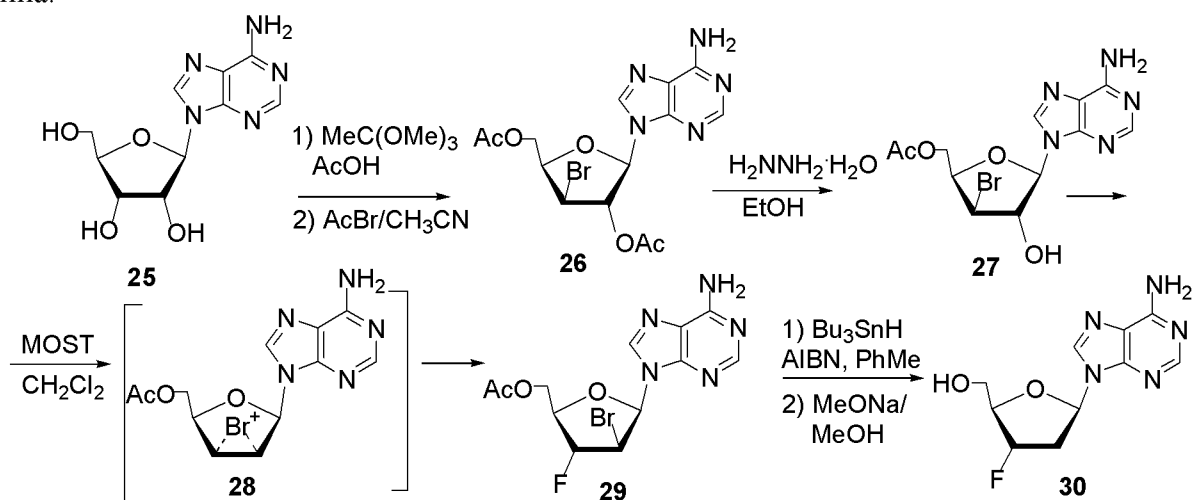


Рисунок 7

Селективное удаление 2'-О-ацетильной группы в нуклеозиде **26** с последующей необычной перегруппировкой атома брома в процессе реакции фторирования промежуточного бромнуклеозида **27** морфолинсульфотрифторидом (MOST) давали фтордезоксинуклеозид **29** с хорошим выходом. Радикулярное дезоксигенирование последнего и удаление 5'-О-ацетильной группы приводили к FddA (**30**) с суммарным выходом 40% из аденозина (**25**).

Синтез 3'-дезокси-3'-фтораденозина (**34**) был описан с использованием реакции фторирования тритильного производного ксилонуклеозида **32** DAST на ключевой стадии [21]. Так, тритилирование ксило-А (**31**) в пиридине давало 3',5'-ди-О-дитритильное производное **32** с выходом 50% (рисунок 8). Обработка последнего избытком фторирующего агента приводила к фтордезоксинуклеозиду **33** с выходом 72%. Стандартное удаление тритильных защитных групп в соединении **33** давало целевой нуклеозид **34** с выходом 48%.

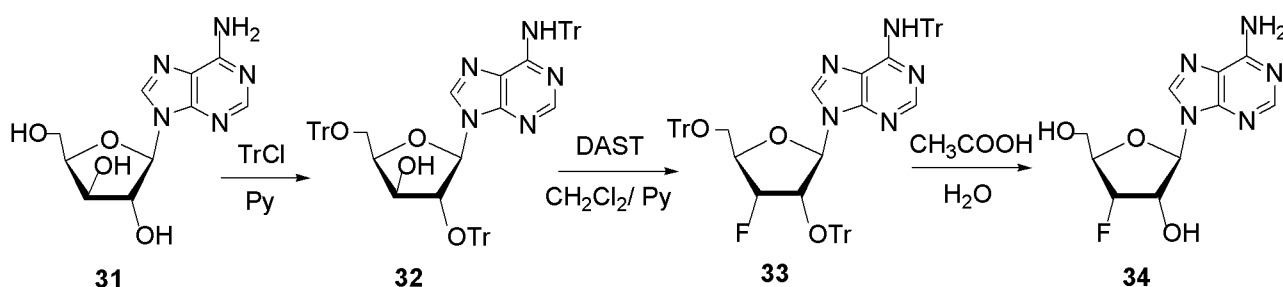


Рисунок 8

Ряд 3'-дезокси-3'-фторрибонуклеозидов **34**, **41–43** и **48–50** был синтезирован из D-ксилозы с использованием конвергентного подхода для изучения антивирусной и цитостатической активности (рисунок 9) [22]. Бензильное производное метил-3-дезокси-3-фтор-D-арабинофуранозы **36** получено в результате раскрытия эпоксицикла 2,3-ангидропроизводного **35**  $\text{KHF}_2/\text{NaF}$  при кипячении в 1,2-этиленгликоле с выходом 43%. Обработка промежуточного тозилата **37** бензоатом натрия в DMSO приводила к бензоату **38** (51%) и дибензоату рибозида **39** (38%). Ацетоллиз фторида **39** в смеси  $\text{Ac}_2\text{O}/\text{CH}_3\text{COOH}/\text{H}_2\text{SO}_4$  давал ацетат **40** с выходом 94% [22, 23].

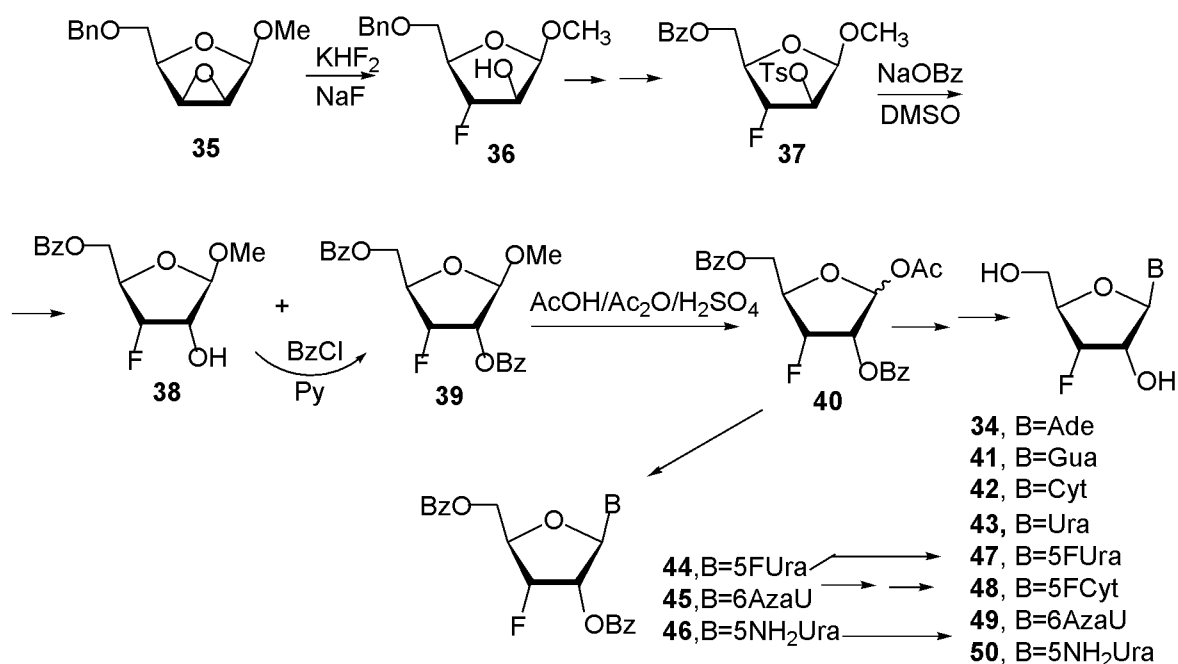


Рисунок 9

Реакция конденсации перацильного производного 3-дезоксиг-3-фтор-D-рибозы **40** с силильными производными различных пуриновых и пиримидиновых гетероциклических оснований в присутствии катализаторов Фриделя-Крафтса приводила к целевым 3'-дезоксиг-3'-фтор-β-D-рибонуклеозидам после удаления защитных групп.

Синтезированные 3'-дезоксиг-3'-фтор-D-рибонуклеозиды были изучены в качестве ингибиторов ряда различных ДНК и РНК-вирусов на культурах PRK, HeLa и Vero B клеток [22]. Антивирусная активность фторированных в углеводном фрагменте рибонуклеозидов в отношении ВИЧ-1 также изучена на культурах клеток Т-лимфоцитов человека (MT-4), моноклональных клеток периферической крови человека (PBM). 3'-Дезоксиг-3'-фтор-β-D-рибонуклеозиды **34**, **41**, **43** и **47–50** не обнаружили селективного антивирусного действия в отношении вируса иммунодефицита человека типа 1 в сравнении с азидотимидином на культурах MT-4 и PBM клеток. Следует отметить, что 3'-дезоксиг-3'-фторцитидин (**42**), как было установлено в результате тестирования против ВИЧ-1 (штамм LAI) на культуре PBM клеток, обнаруживает слабую активность (EC<sub>50</sub>=77,5 мкм; CC<sub>50</sub>>100 мкм) в отличие от данных биологических оценки этого нуклеозида на культуре MT-4 клеток.

Установлено, что 3'-дезоксиг-3'-фторадеозин (**34**) обладает широким спектром биологической активности и ингибирует репликацию различных РНК-вирусов (полио, Коксаки, Синдбис, лесов Семлики) и ДНК-вируса (коровьей оспы) на культурах HeLa и Vero клеток в интервале EC<sub>50</sub>-концентраций 1–7 мкг/мл, которые значительно ниже его цитотоксичности (CC<sub>50</sub>>40 мкг/мл) [22].

Цитостатические свойства ряда синтезированных нуклеозидных аналогов, содержащих атом фтора при С-3' атоме углеводного фрагмента, были изучены на различных опухолевых клеточных линиях в тестах *in vitro*.

Таблица 1 – Цитостатическая активность 3'-дезоксиг-3'-фторадеозина (**34**) в отношении различных опухолевых клеточных линий

50%-ная ингибирующая концентрация (IC <sub>50</sub> ) мкг/мл			
Лимфоидная лейкемия мышей L1210	В- лимфобластный лейкоз человека Raji	Т- лимфобластный лейкоз человека Molt/4F	Т- лимфобластный лейкоз человека MT-4
1,6	3,9	28	0,22

3'-Дезоксиг-3'-фторадеозин (**34**) обнаружил высокую цитостатическую активность в отношении четырех культур опухолевых клеток (таблица 1). Этот нуклеозид проявил наилучший цитостатический эффект на клеточной линии MT-4 (IC<sub>50</sub>= 0,22 мкг/мл) [22].

Стереохимические особенности 2',3'-дидезоксиг-3'-фтор-2'-(X-замещенных)-D-рибонуклеозидов изучены на основании данных <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопии и конформационного анализа с помощью компьютерной программы PSEUROT 6.3 и установлено, что преобладающая популяция S-конформеров (≥94%) характерна для пентофуранозного кольца 3'-дезоксиг-3'-фтор-2'-X-замещенных (X= H, OH, N<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>)-β-D-рибонуклеозидов в растворе [24,25].

#### 2'-Дезоксиг-2'-фтор-D-рибонуклеозиды

Первый пиримидиновый рибонуклеозид **52a**, содержащий атом фтора в 2-положении углеводной части, был синтезирован Кодиנגтоном в 1969 году расщеплением ангидросвязи O<sup>2</sup>,2'-ангидроуридина (**51a**, X=H) безводным HF в диоксане с выходом 40%. Аналогичным образом были получены 5-замещенные пиримидиновые 2'-дезоксиг-2'-фторрибонуклеозиды (**52b-c**, X=F, CH<sub>3</sub>) (рисунок 11) [26].

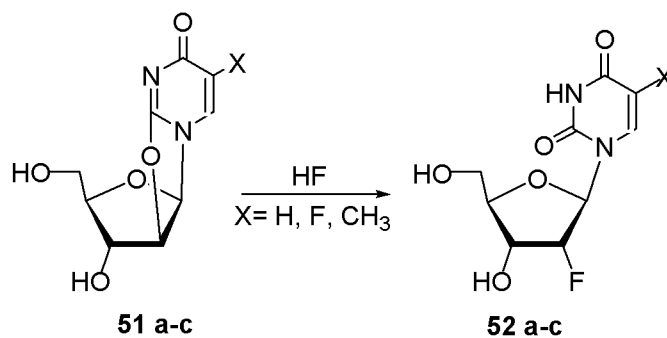


Рисунок 11

Синтез 2'-дезоксидезокси-2'-фторцитидина (**54**) (рисунок 12) осуществлен простым раскрытием ангидросвязи в  $O^2,2'$ -циклоцитидине (**53**) безводным KF в DMF в присутствии краун-эфира с выходом 40% [27].

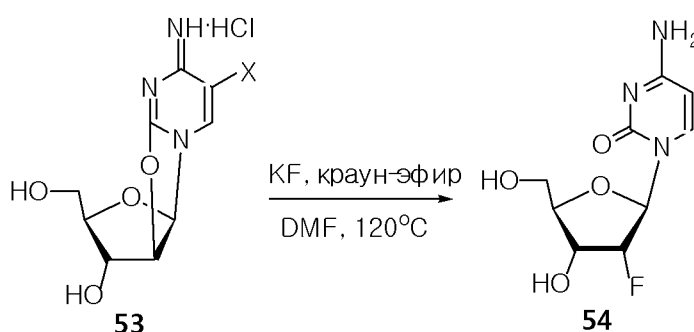


Рисунок 12

Ряд пиримидиновых рибонуклеозидов с 2'- $\alpha$ -атомом фтора обладают противовирусной активностью в отношении вируса герпеса, но только 2'-дезоксидезокси-2'-фторцитидин (**54**), как было недавно установлено, является мощным и селективным ингибитором РНК полимеразы вируса гепатита С (EC<sub>90</sub> составляет 5,6 мкм и CC<sub>50</sub> – более 100 мкм) [28], а наибольший практический интерес в терапии гепатита С представляют 2'- $\beta$ -метил аналоги 2'-дезоксидезокси-2'-фторцитидина **59–60** (рисунок 13) и 5'-О-фосфоамидита 2'-дезоксидезокси-2'-фторуридина **61**, которые в настоящее время находятся на стадиях II клинических испытаний [30, 31].

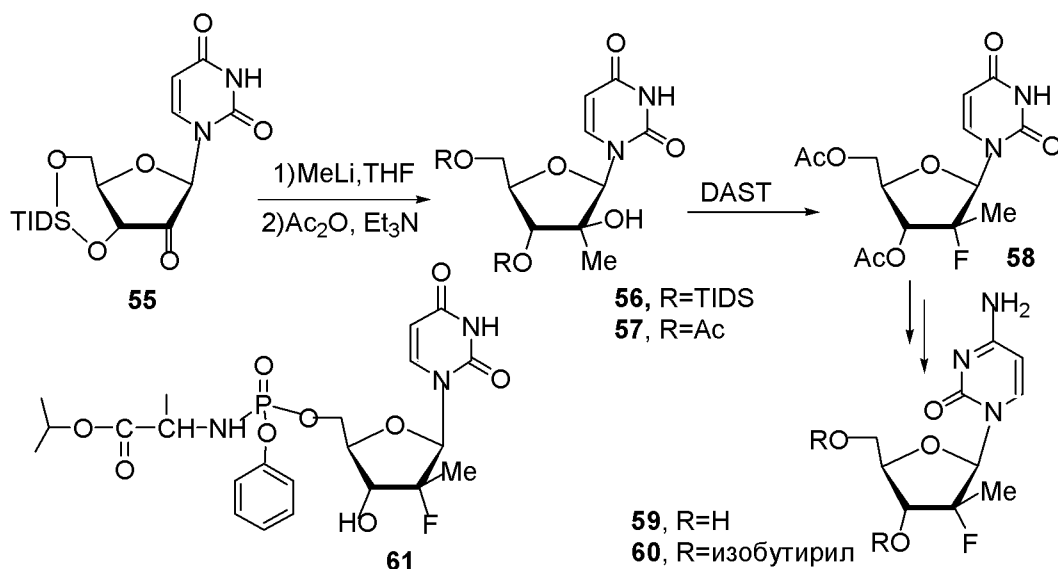


Рисунок 13

Аналог 2'-дезоксизитидина **66** со вторым атомом фтора при С-2' был синтезирован в 90-ые годы конденсацией мезильного производного 2,2-дифтор-2-дезоксирибозы **65** с силильным производным цитозина и последующим удалением защитных групп (рисунок 14). Ключевыми стадиями в синтезе нуклеозидов такого типа являются а) получение промежуточного синтона **64** из этилового эфира бромдифторацетата и ацетонида R-глицероальдегида **63** по реакции Реформацкого, и б) гликозилирование гетерооснования производным 2,2-дифтор-2-дезоксирибозы [32]. 2',2'-Дифтордезоксизитидин (гемцитабин, **66**) является эффективным ингибитором рибонуклеотиддифосфатредуктазы и в настоящее время широко используется в качестве эффективного противоопухолевого агента в химиотерапии рака поджелудочной железы [7].

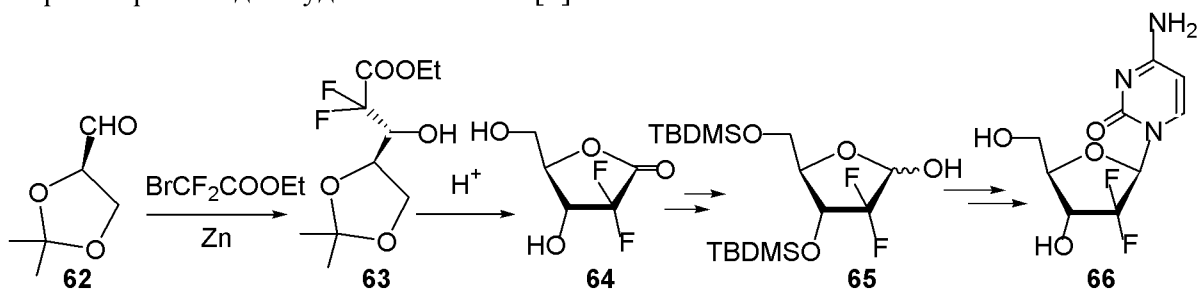


Рисунок 14

Конвергентный синтез пуриновых рибонуклеозидов с 2'- $\alpha$ -атомом фтора разработан на основе перацильного производного 2-деокси-2-фтор-D-рибозы **67** полученного из доступной D-ксилозы (рисунок 15) и описан в работах [33–35].

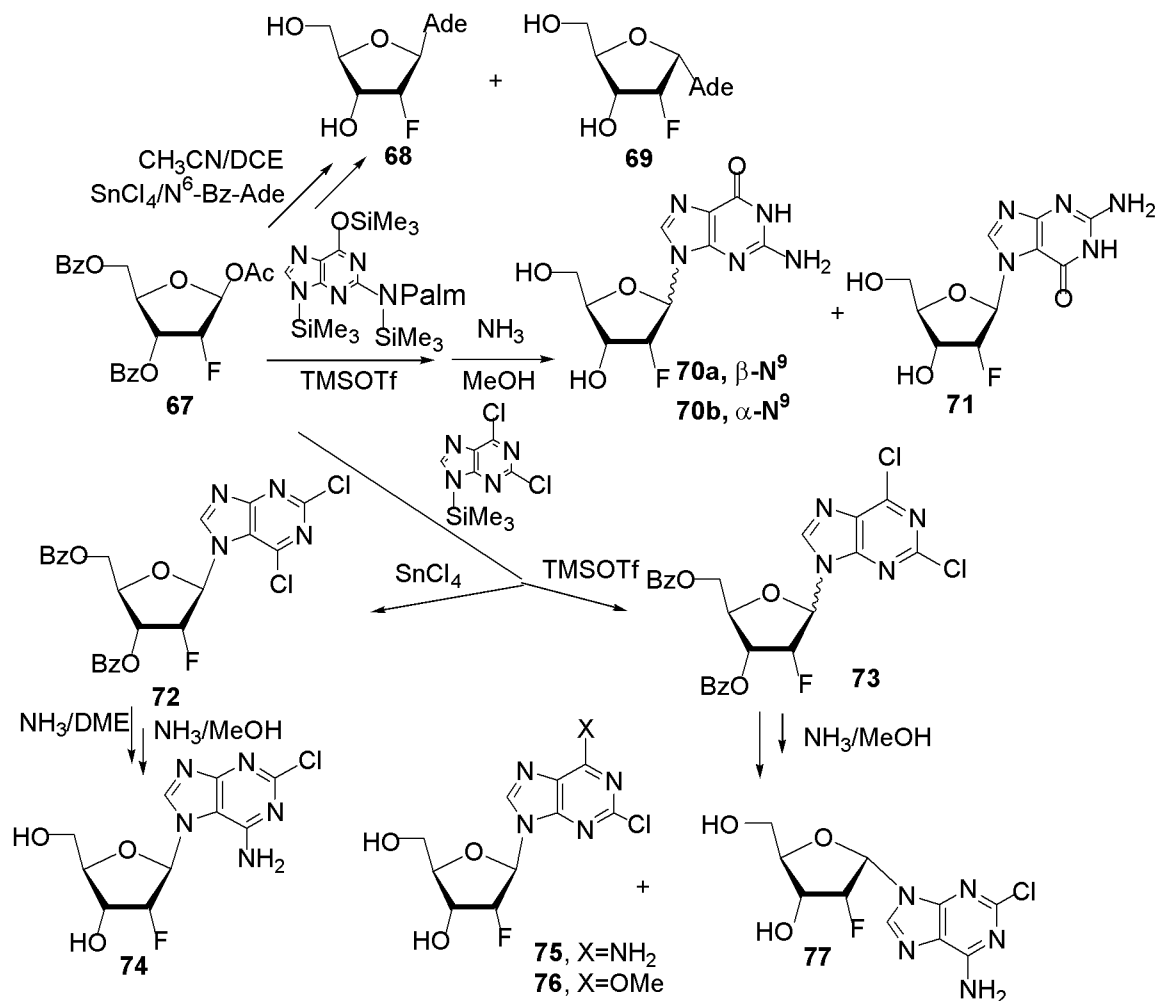


Рисунок 15



Конденсация ацетата **67** и 6,9-бис(триметилсилил)-6-бензоиладенина в присутствии избытка  $\text{SnCl}_4$  приводила к образованию адениновых  $N^{\beta}$ - $\beta$ -D- и  $N^{\alpha}$ - $\alpha$ -D-нуклеозидов в соотношении 3:1, стандартное деблокирование которых приводило к 9-(2-фтор-2-дезоксид- $\beta$ -D-рибофуранозил)аденину (**68**) и его  $\alpha$ -аномеру **69** с суммарными выходами 48% и 13%, соответственно [33]. Конденсация рибо-фторида **67** с триметилсилильным производным  $N^2$ -пальмитоилгуанина в присутствии TMSOTf в  $\text{CH}_3\text{CN}$  давала смесь ацильных производных нуклеозидов **71**, **70a** и **70b**, которые были выделены с 27%, 12% и 5% выходами, соответственно. Стандартное деблокирование промежуточных нуклеозидов приводило к  $N^7$ - $\beta$ -нуклеозиду **71**,  $N^{\beta}$ - $\beta$ - и  $\alpha$ -нуклеозидам **70a** и **70b**, которые были выделены в индивидуальном состоянии с 80–85% выходами после хроматографии на силикагеле [35].

Гликозирование 9-триметилсилил-2,6-дихлорпурина ацетатом **67** в ацетонитриле в присутствии  $\text{SnCl}_4$  протекало регио- и стереоселективно с образованием  $N^7$ - $\beta$ -гликозида **72** (86%). Замена хлорида олова на TMSOTf приводило к образованию  $N^{\beta}$ - $\beta$ -гликозида **73** в смеси с  $\alpha$ -аномером ( $\beta/\alpha=9:1$ ) с суммарным выходом 90%. Обработка смеси  $N^{\beta}$ - $\beta$ -нуклеозида **73** и его  $\alpha$ -аномера аммиаком в метаноле приводит к образованию 2'-дезоксид-2'-фторрибонуклеозидов 2-хлораденина **75** и 2-хлор-6-метоксипурина **76** с выходом 42% и 39%, соответственно [34].

Исследования биологических свойств фтордезоксинуклеозидов 2-хлораденина показали, что только 2-хлор-2'-дезоксид-2'-фтораденозин (**75**) обладает цитостатической активностью в отношении Т-клеточных лейкозов на ряде культур клеток. Нуклеозидный рибо-аналог клофарабина **75**, в отличие от  $N^7$ - $\beta$ -нуклеозида **74**, обнаружил цитотоксический эффект при концентрации 10 мкг/мл в тестах на опухолевых клеточных линиях – IM-9, Raji, MOLT-3 и U-937, однако это соединение оказался токсичным и для нормальных лимфоцитов периферической крови [34]. 2'-Дезокси-2'-фторгуанозин (**70a**), как было установлено в тестах *in vitro*, обладает противовирусной активностью ( $\text{EC}_{50}=0,42$  мкг/мл) в отношении вируса гриппа FPV/Rostock/34 (штамм H7N1) [35].

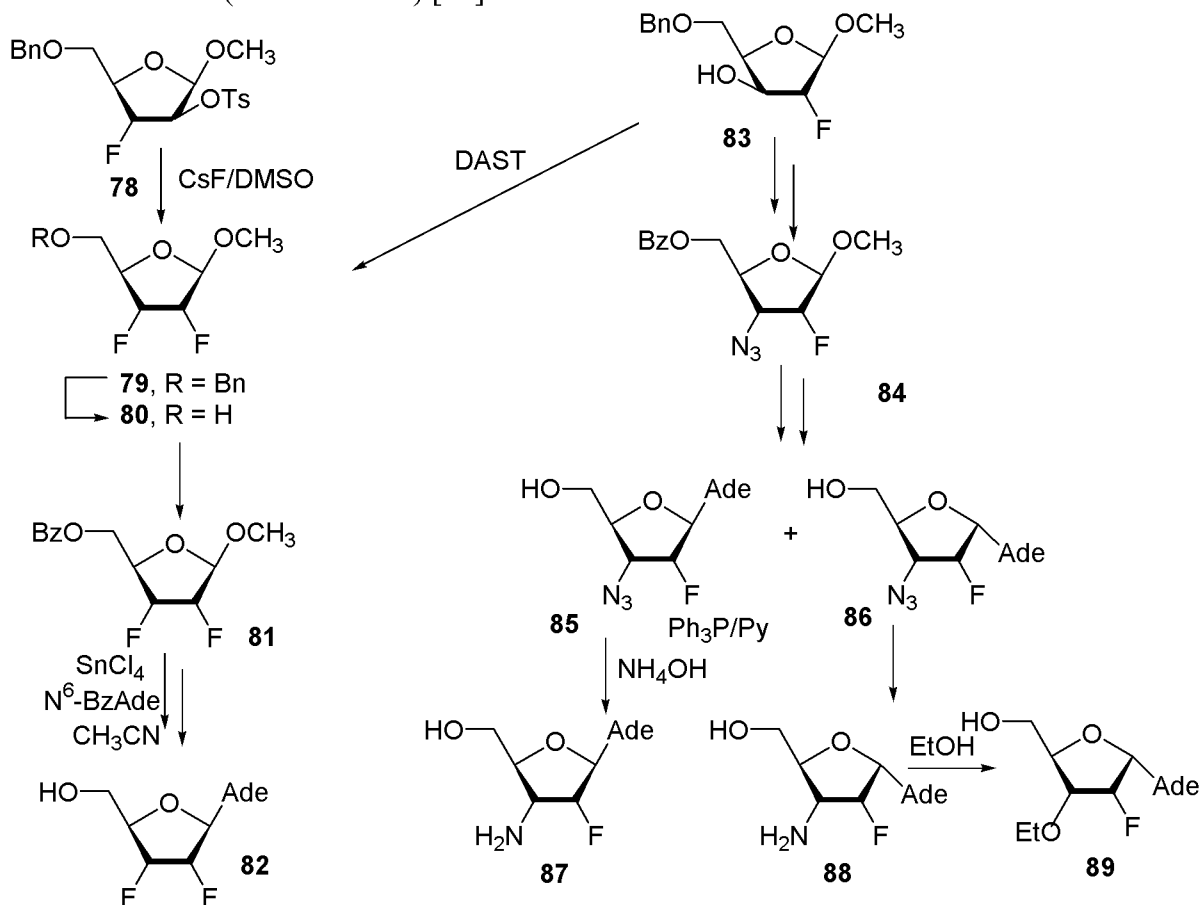


Рисунок 16

Ряд 2',3'-дидезокси-2'-фтор-3'-X-замещенных-(X= F, N<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>)-D-рибонуклеозидов аденина был получен из D-ксилозы с целью изучения биологических свойств и стереохимии углеводной части нуклеозидов (рисунок 16). 2',3'-Дидезокси-2',3'-дифторадеозин (**82**), 3'-азидо-2',3'-дидезокси-2'-фторадеозин (**85**) и его α-аномер **86** синтезированы из фтордезоксисахаров **81** и **84** [35]. Ключевой гликозилирующий агент **81** для конвергентного синтеза 2',3'-дифторрибонуклеозидов был получен в результате нуклеофильного замещения тозилксигруппы в арабинозиде **78** CsF в DMSO или обработки DAST ксилозида **83**. Конденсация метил гликозида **81** с 6,9-бис(триметилсилил)-6-бензоиладенином силильным методом и удаление защитных групп приводили к целевому дифторнуклеозиду **82** (45%).

Синтез 9-(3-азидо-2,3-дидезокси-2-фтор-β-D-рибофуранозил)аденина (**85**) осуществлен реакцией гликозилирования N<sup>6</sup>-бензоиладенина производным 3-азидо-2,3-дидезокси-2-фторрибозы **84**, полученной в результате тозилрования ксилозида **83** и нуклеофильного введения азидогруппы. Азидонуклеозиды **85** и **86** были превращены в соответствующие 3'-амино-3'-дезоксинуклеозиды **87** (85%) и **88** (82%) в условиях реакции Штаудингера. Необычное превращение α-рибонуклеозида **88** с 2'-α-атомом фтора в 3'-O-этильное производное 2'-дезокси-2'-фтор-α-рибонуклеозида **89** (10-12%) наблюдалось при растворении чистого α-нуклеозида **89** в этаноле при нагревании [37]. Этот результат подтверждает электронное влияние атома фтора на соседнюю функциональную группу углеводной части 2'-амино-3'-фтор-α-аденозина (**89**) и химические свойства нуклеозида в целом.

Антивирусная активность синтезированных рибонуклеозидов **82**, **85–89** была изучена в отношении ВИЧ-1 и вируса гепатита С на культуре РВМ и Huh-7 Replicon клеток, соответственно [37]. Эти фтордезоксинуклеозиды не проявили антивирусной активности в данных тест-системах. Конформационный анализ ряда адениновых 2,3-дидезокси-2-фтор-3-X-D-рибофуранозидов (X=F, OH, N<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub>, H), выполненный с использованием программы PSEUROТ (версия 6.3), впервые позволил установить, что пентофуранозные кольца пуриновых нуклеозидов находятся преимущественно в конформации N-типа, причем степень заселенности конформации такого типа уменьшается с увеличением электроотрицательности 3-α-заместителя (H, 95%; NH<sub>2</sub>, 90%; N<sub>3</sub>, 71; OH, 68; F, 15%) [35].

### 2'-Дезокси-2'-фтор-D-арабинофуранозилнуклеозиды

Пуриновые 2'-β-фтор нуклеозиды привлекают особое внимание исследователей благодаря их высокой химической и энзиматической стабильности, разнообразной биологической активности. Они представляют особый интерес для синтеза олигонуклеотидов [38].

Синтез 9-(2-дезокси-2-фтор-β-D-арабинофуранозил)аденина (**97**) был осуществлен из O-метильного производного D-рибозы **90** (рисунок 17).

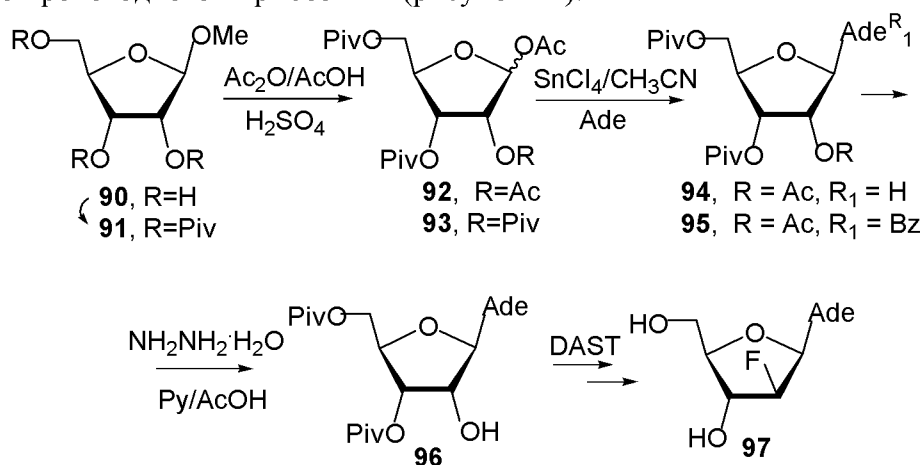


Рисунок 17

Подход, включающий комбинацию конвергентного способа синтеза 2'-О-ацетил-3',5'-ди-О-пивалоил-аденозина (**95**) из перацильного производного D-рибозы **92** и прямого введения атома фтора в промежуточный нуклеозид **96** с использованием DAST, недавно исследован для получения 2'-F-ара-А (**97**). Использование объемных ацильных защитных групп в рамках прямого подхода позволяет осуществить 2'-β-фторирование 3',5'-ди-О-пивалоиладенозина **96** с выходом 31% [39].

Среди других 2'-β-фтор пуриновых нуклеозидов следует особо выделить 9-(2,3-дидезокси-2-фтор-β-D-*трео*-пентофуранозил)аденин (**103**, 2'-β-FddA или лоденозин), который обладает анти-ВИЧ активностью и действует как эффективный ингибитор обратной транскриптазы вируса иммунодефицита человека, причем в комбинации с другими нуклеозидными анти-ВИЧ агентами или ненуклеозидными ингибиторами обратной транскриптазы, протеазы ВИЧ усиливает их антивирусное действие [40, 41].

Для получения 9-(2,3-дидезокси-2-фтор-β-D-*трео*-пентофуранозил)аденина (**103**) ключевой промежуточный нуклеозид **101** был синтезирован из аденозина (**25**) (рисунок 18). 3'-Дезоксиаденозин (**100**) был синтезирован региоселективным восстановлением 2',3'-рибо-эпоксида аденозина **99** Li(i-Bu)<sub>3</sub>BH в THF с выходом 89% после хроматографии на силикагеле. Селективное ацилирование кордицепина (**100**) пивалоилом хлористым в смеси пиридина и хлористого метилена позволило получить его 5'-О-пивалоильное производное **101** (64%). Фторирование пивалоилата 3'-дезоксиаденозина (**101**) при нагревании в смеси CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>/Py приводило к фториду **102** с выходом 21%. Лоденозин (**103**) был получен стандартным удалением пивалоильных защитных групп нуклеозида **102** [39].

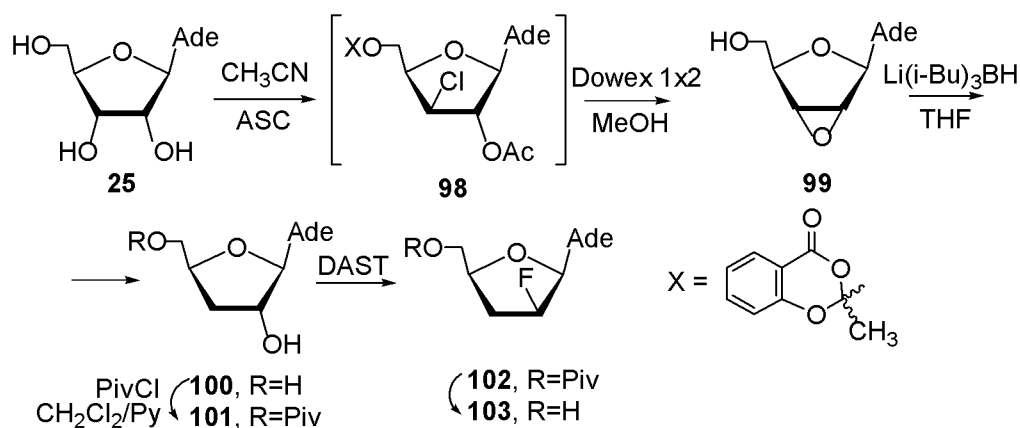


Рисунок 18

Для изучения влияния стереохимии нуклеозидов **96** и **101** на реакцию фторирования их углеводной части, детальный конформационный анализ этих соединений был выполнен с использованием программы PSEUROT 6.3, а также полуэмпирических компьютерных расчетов с помощью программы HyperChem 7.0. Изучение стереохимии пентофуранозных колец нуклеозидов **96** и **101** показало, что доля *S*-конформера для рибонуклеозида **96** составила 65%, а для 3'-дезоксинуклеозида **101** – 49%. Рассматривая в целом результаты конформационного анализа можно констатировать, что в ряде конформаций соединения **96** 5'-О-пивалоильная защитная группа и гетерооснование не создают существенных стерических препятствий для нуклеофильного введения атома фтора в С2'-положение. Аналогичный анализ стереохимии 5'-О-пивалоильного производного **101** 3'-дезоксиаденозина позволяет заключить, что при нуклеофильном замещении во всех его конформациях существуют препятствия для нуклеофильного введения атома фтора. Полученные данные в целом хорошо согласуются с умеренными выходами на стадии фторирования DAST адениновых нуклеозидов **96** и **101** [39].

Аналог 2'-F-ара-А **106** с атомом хлора во 2-положении гетероциклического основания представляет особый практический интерес и является первым монофтордезоксинуклеозидом, который обладает высокой противоопухолевой активностью и разрешен для применения в качестве противоопухолевого препарата для лечения лейкемии у детей и взрослых после длительных клинических испытаний [42]. Один из препаративных методов синтеза клофарабина (**106**) (рисунок 19) включает конденсацию бромсахара **104** с 2-хлораденином с высокой стереоселективностью и последующее удаление защитных групп промежуточного нуклеозида без хроматографического выделения (суммарный выход составил 33–42%) [43].

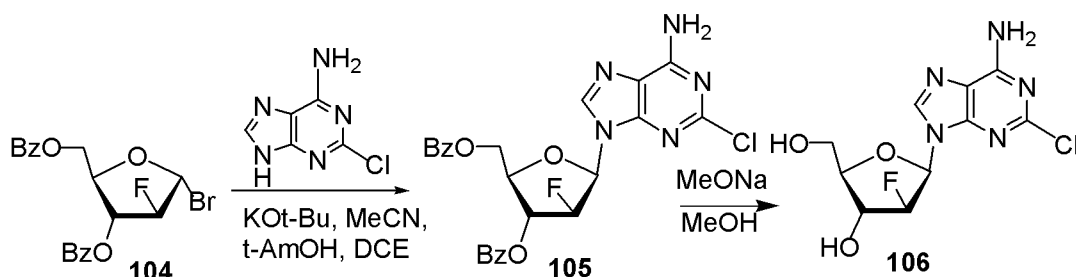


Рисунок 19

Поиск эффективных синтетических подходов к клофарабину (**106**) с целью создания оригинальной и промышленно значимой технологии представляет важную практическую задачу. Эффективный метод получения 2-хлор-9-(2-дезоксидеокси-2-фтор- $\beta$ -D-арабинофуранозил)аденина (**106**) разработан из доступных 1-O-ацил-3,5-ди-O-бензоил-2-дезоксидеокси-2-фтор-D-арабинофуранозидов (**107 a,b**) [44] с высоким суммарным выходом 55–63% (рисунок 19). Этот подход заключается в получении 3,5-ди-O-бензоил-2-дезоксидеокси-2-фтор- $\alpha$ -D-арабинофуранозил бромида (**104**) и последующей конденсации промежуточного бромида с калиевой солью 2,6-дихлорпурина в среде апротонного растворителя с образованием  $\text{N}^9$ - $\beta$ -нуклеозида **108**. Обработка последнего после выделения аммиком в смеси метанола и 2,3-бутиленгликоля приводила к целевому фторнуклеозиду **106** [45].

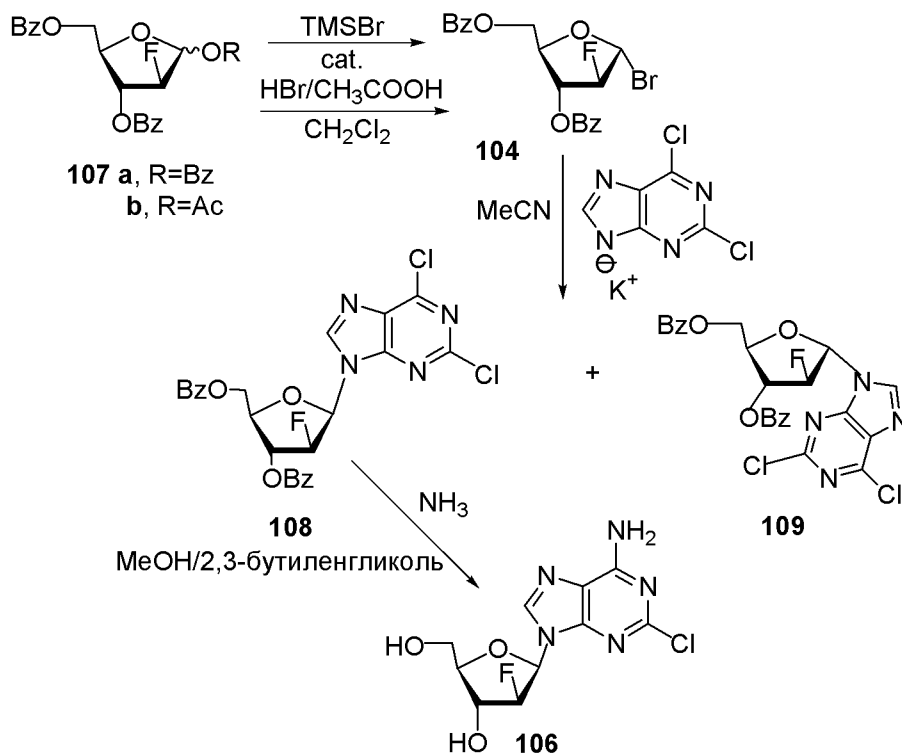


Рисунок 19

Новый подход к синтезу C2'-β-фторзамещенных пуриновых нуклеозидов **97** и **106** изучен через ранее неизвестные ацильные производные β-D-рибозида 2,6-дихлорпурина **110** и **111** [46]. Конденсация 1,2-ди-O-ацетил-3,5-ди-O-пивалоил-D-рибофуранозы (**93**) и силильного производного 2,6-дихлорпурина в ацетонитриле в присутствии TMSOTf приводила к 9-(2-O-ацетил-3,5-ди-O-пивалоил-β-D-рибофуранозил)-2,6-дихлорпурину (**110**) с выходом 85%. Селективное удаление 2-O-ацетильной группы в последнем с использованием бикарбоната натрия в метаноле давало 3',5'-ди-O-пивалоильное рибонуклеозида 2,6-дихлорпурина **111**. Фторированием последнего с использованием DAST при комнатной температуре был получен 9-(3,5-ди-O-пивалоил-2-дезоксидефтор-β-D-арабинофуранозил)-2,6-дихлорпурин (**112**). Аминированием гетероциклического основания нуклеозида **112** аммиаком в 1,2-диметоксиэтаноле и каталитическим гидрированием на 10% Pd/C с последующим удалением пивалоильных защитных групп промежуточных β-нуклеозидов 2-хлораденина или аденина осуществлен синтез 2'-F-ара-A (**97**) и клофарабина (**106**).

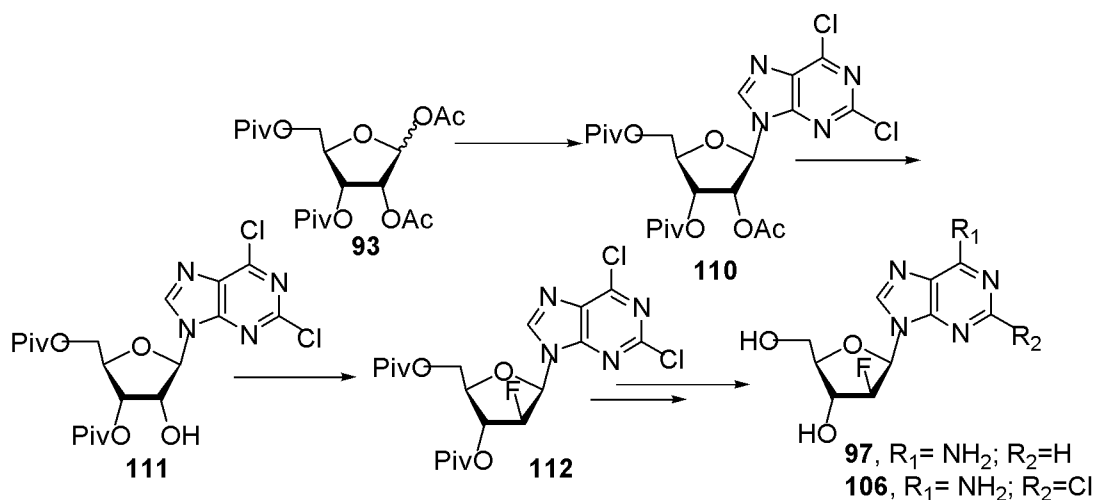


Рисунок 20

### 2',3-Дидезокси-2',3'-дифтор-D-арабинофуранозил нуклеозиды

Ввиду широкого химиотерапевтического потенциала 2'-β-фтор пуриновых нуклеозидов, конвергентный синтез пуриновых 2',3'-дидезокси-2',3'-дифтор-β-D-арабинофуранозил нуклеозидов, новых аналогов лоденозина **123** и клофарабина **125**, содержащих атом фтора при C-3' вместо атома водорода или гидроксильной группы, соответственно, изучен с использованием метил гликозида **114** или бромида **116** [47].

Синтез метил-5-O-бензоил-2,3-дидезокси-2,3-дифтор-D-арабинофуранозида (**114**) в качестве универсального гликозилирующего агента для получения нуклеозидов этого класса осуществлен в результате фторирования *ликсо*-сахара **115** DAST (рисунок 21). Конденсация дифторида **38** в CH<sub>3</sub>CN с 6,9-бистриметилсилильным производным N<sup>6</sup>-бензоиладенина при кипячении в присутствии SnCl<sub>4</sub> давала смесь β- и α-нуклеозидов **117** и **118**, которые были разделены колоночной хроматографией на силикагеле. Образование целевого β-нуклеозида **117** наблюдалось с низким выходом (9%) наряду с основным продуктом реакции – α-нуклеозидом **118** (42%). Конденсация бромсахара **116** с натриевой солью N<sup>6</sup>-бензоиладенина в THF при кипячении приводила к смеси N<sup>9</sup>-β/α-аномеров **117** и **118** (2,9/1, суммарный выход 26%). Установлено, что наиболее оптимальным методом получения новых нуклеозидных аналогов лоденозина и клофарабина является анионное гликозилирование натриевой соли гетероциклического основания (N<sup>6</sup>-бензоиладенина и 2,6-дихлорпурина) α-бромпроизводным 2,3-дидезокси-2,3-дифтор-D-арабинофуранозы **116**, с последующим превращением промежуточных β-аномеров нуклеозидов N<sup>6</sup>-бензоиладенина или 2,6-дихлорпурина в целевые N<sup>9</sup>-β-нуклеозиды аденина и 2-хлораденина **123** и **125**.

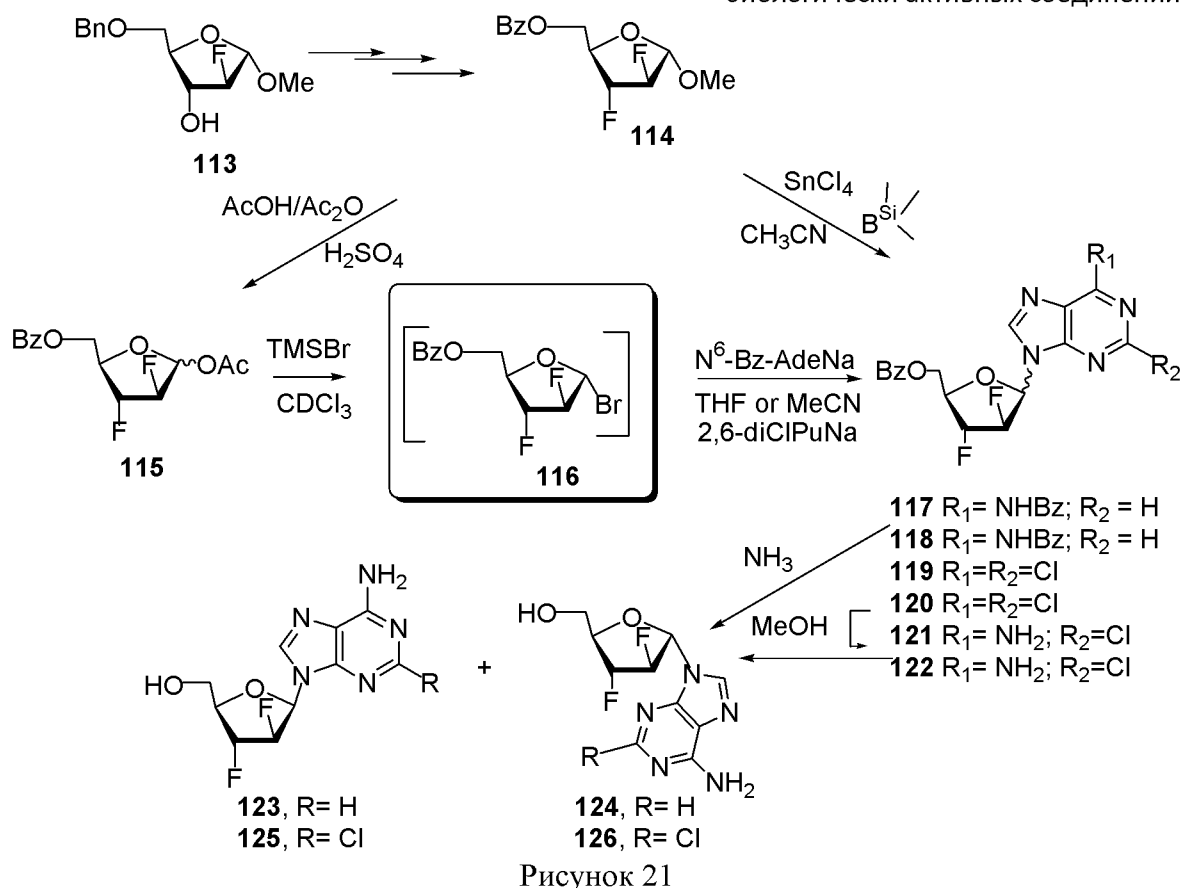


Рисунок 21

Новые 2',3'-дидезокси-2',3'-дифтор-D-арабинофуранозил нуклеозиды **123-126** тестированы *in vitro* в отношении вируса иммунодефицита человека типа 1 и вируса гепатита С на культурах PBM и Huh-7 Replicon клеток, соответственно (таблица 2). 9-(2,3-Дидезокси-2,3-дифтор-β-D-арабинофуранозил)аденин (**123**) показал высокую активность против ВИЧ-1 при средней 50%-ной эффективной ингибирующей концентрации 0,72 мкм на культуре PBM клеток без цитотоксичности до 100 мкм в трех различных клеточных системах – PBM, VERO (эпитальные клетки почек африканских зеленых обезьян) и CEM (клеточная линия, выведенная из Т-клеток человека) [47].

Таблица 2 – Антивирусная активность 2',3'-дидезокси-2',3'-дифтор-D-арабинофуранозил нуклеозидов **123-126** в отношении ВИЧ-1 и гепатита С на культурах PBM и Huh-7 клеток\*

Соединение	Активность в отношении ВИЧ-1 в PBM клетках и клеточная токсичность					Активность в отношении гепатита С в Huh-7 клетках		
	EC <sub>50</sub> (мкм)	EC <sub>90</sub> (мкм)	CC <sub>50</sub> (мкм)			EC <sub>50</sub> (мкм)	EC <sub>90</sub> (мкм)	CC <sub>50</sub> (мкм)
			PBM	CEM	VERO			
<b>123</b>	0,72	10,3	>100	>100	>100	>10	>10	>10
<b>124</b>	5,6	>100	>100	>100	>100	>10	>10	>10
<b>125</b>	14,1	46,3	13,6	70,2	>100	>10	>10	>10
<b>126</b>	60,1	>100	9,4	>100	>100	>10	>10	>10
<b>2'-β-Fdda (103)</b>	4,43	–	>100	–	–	–	–	–
<b>AZT</b>	0,0026	0,010	>100	14,3	56,0	–	–	–
<b>2'-C-Me-C</b>	–	–	–	–	–	1,3	5,4	>10

\*Азидотимидин и 2'-С-Ме-цитозин были использованы в качестве стандартов.

Сравнение химио-терапевтического индекса (ХТИ или  $CC_{50}/EC_{50}$ ) противовирусного действия нового аденинового нуклеозидного аналога **123** с таковым для 2'-β-F-ddA (**103**), установленным ранее в аналогичной тест-системе, показывает, что 9-(2,3-дидезокси-2,3-дифтор-β-D-арабинофуранозил)аденин (**123**) обладает анти-ВИЧ-активностью, в 5 раз превышающей таковую известного противовирусного агента лоденозина (**103**) в тестах *in vitro* (таблица 2).

На примере структурно подобных адениновых нуклеозидов с атомом фтора **103** и **127**, двумя атомами фтора в углеводном фрагменте **123** и **82** была проанализирована взаимозависимость стереохимии пентофуранозного цикла D-нуклеозидов и их антивиральной активности в отношении ВИЧ-1.

Сtereохимия четырех адениновых нуклеозидов проанализирована программы PSEUROT (версия 6.3) на основании их ЯМР-спектральных данных, полученных в одном дейтерорастворителе (таблица 3). Как следует из полученных псевдоротацонных параметров, лоденозин (**103**) и 2',3'-дидезокси-2',3'-дифтор-ара-А (**123**) обладают похожей стереохимией пентофуранозного кольца в растворе: доминирующей конформацией является конформация *S*-типа (71–77%) с узким сегментом ( ${}^2E - {}^1T$ ) псевдоротацонного цикла [47]. В отличие от адениновых 2'-β-фторнуклеозидов, два других нуклеозидных аналога 2',3'-дидезоксиаденозина, представленных в таблице 3, с одним атомом фтора в 2'-α-конфигурации 2'-α-FddA **127** и с двумя атомами фтора в D-рибо-конфигурации **82** обладают совершенно различными псевдоротацонными параметрами и конформационное равновесие их пентофуранозных колец сдвинуто в сторону конформера *N*-типа (95%) и *S*-типа (89%), соответственно. Оба 2'-α-фторнуклеозида не проявляли ингибирующего действия в отношении ВИЧ-1 на культуре клеток.

Таблица 3 – Псевдоротацонные параметры адениновых нуклеозидов **104**, **125**, **83** и **129** в  $CD_3OD$

Нуклеозид	Псевдоротацонные параметры адениновых фтордезоксинуклеозидов						
	$P_N$ [°]	$\nu_{maxN}$ [°]	$P_s$ [°]	$\nu_{maxS}$ [°]	rms [Гц]	$ \Delta J $ [Гц]	<i>S</i> [%]
 <b>103</b> <sup>1)</sup>	-13,7 ( ${}^2E$ )	29,3	145,9 ( ${}^1T$ )	39,9	0,06	0,12	<b>71</b>
 <b>123</b> <sup>2)</sup>	-15,9 ( ${}^2E$ )	48	148,8 ( ${}^1T$ )	38,5	0,11	0,13	<b>77</b>
 <b>82</b> <sup>3)</sup>	18 ( ${}^3E$ )	38	159,4 ( ${}^2E$ )	30,5	0,28	0,37	<b>89</b>
 <b>127</b> <sup>1)</sup>	4,6( ${}^3T$ )	36,7	90 ( ${}^0E$ )	44	0,05	0,09	<b>5</b>

Стереохимические особенности (доля доминирующего *S*-конформера и сегмент псевдоротационного цикла), установленные в растворе для биологически активных адениновых 2'-β-фторнуклеозидов **103** и **123**, представляют особый интерес для поиска их новых структурных аналогов, включая, например, модификацию 3'-положения углеводного фрагмента лоденозина (**103**) или гетероциклического основания 2',3'-дидезокси-2',3'-дифтора-ара-А (**123**), с близкими псевдоротационными параметрами и более высокой анти-ВИЧ активностью.

#### Нуклеозиды с атомом фтора в гетероциклическом основании

Ряд нуклеозидов, содержащих атом фтора в гетероосновании и обладающих широким спектром биологической активности, был синтезирован к настоящему времени и их биологические свойства детально изучены. В результате разработаны на основе пуриновых и пиримидиновых нуклеозидных аналогов фторированных в гетероциклическом основании онкогематологические препараты нового поколения (рисунки 22 и 23). Флударабин фосфат (**130**) является эффективным противоопухолевым средством для лечения острого лимфоцитарного лейкоза, хронического лимфолейкоза и не-ходжинских лимфом [7, 48]. Химиико-энзиматический подход к синтезу флударабела **130** разработан в Беларуси с использованием доступного O<sup>2</sup>,2'-циклоцитидина (**128**) с последующим химическим фосфорилированием флударабина (**129**) (рисунок 22) [49, 50]. Фосфорилированная депонформа препарата используется в качестве лекарственного средства в виду плохой растворимости флударабина (**129**). Механизм биологического действия флударабин фосфата подобен другим нуклеозидным аналогам и состоит в последовательном превращении в 5'-трифосфат с блокированием синтеза ДНК через ингибирование ДНК полимеразы и рибонуклеотиддифосфатредуктазы. Однако степень ингибирования этих ферментов для флударабина фосфата ниже в сравнении с клофарабином (**106**), другим важным противоопухолевым агентом этого класса [48].

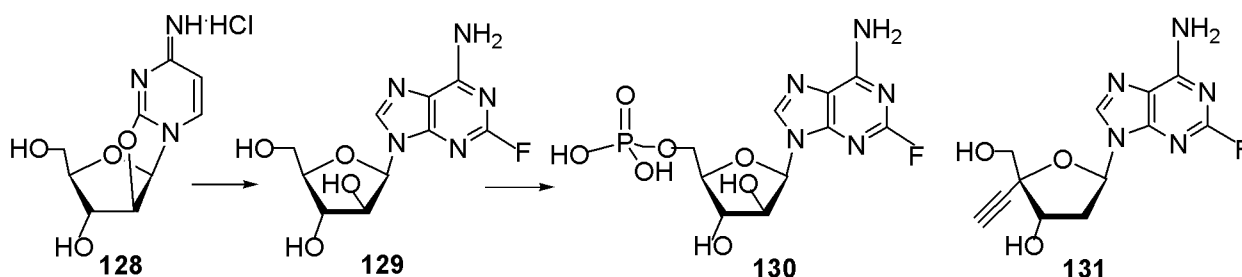


Рисунок 22

Несомненным достижением современной медицинской химии нуклеозидов является синтез и внедрение в клиническую практику нового аналога 5-фторурацила (**1**) – капситабина или кселоды (**132**), используемого для лечения злокачественных новообразований различных органов человека. Особенностью этого препарата является высокая эффективность при оральном приеме, отличный от 2'-дезоксидезокси-2'-фторуридинов метаболизм (рисунок 23) [48].

Новый нуклеозидный аналог 2'-дезоксиденозина – 2'-дезоксид-4'-С-этинил-2-фтораденозин (**131**) (Рисунок 22), способ получения которого разработан из 2'-дезоксид-2-аминоаденозина [51], обладает высокой анти-ВИЧ активностью в тестах *in vitro* и низкой токсичностью. На основе этого фторнуклеозида будет продолжена разработка антивирусного агента нового поколения в отношении различных штаммов ВИЧ и гепатита В [52]. Это соединение принадлежит к числу нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы вируса, но является более эффективным, чем азидотимидин.



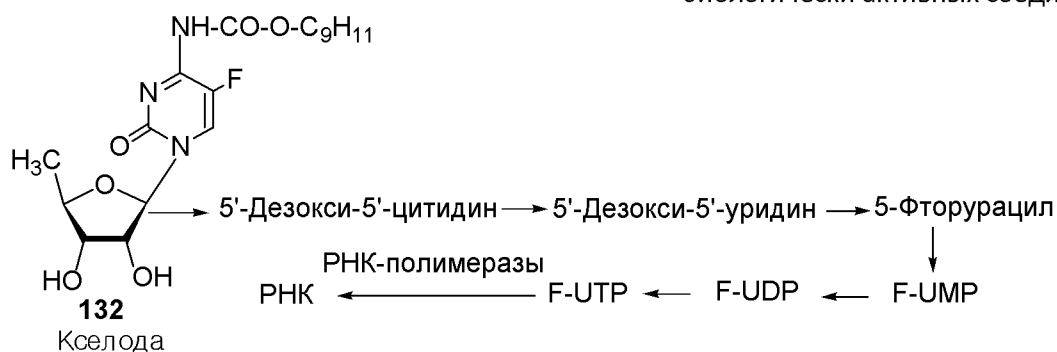


Рисунок 23

### Выводы

Подводя итог, можно отметить, что благодаря обширным и систематическим исследованиям в области химии фтор-сахаров и -нуклеозидов, биологической оценки последних разработан ряд химиотерапевтических агентов. Достижения в разработке методов синтеза фторнуклеозидов, изучении их антивирусной активности и создании лекарственных препаратов на основе фтордеоксианалогов биологически активных нуклеозидов очевидны. Ряд нуклеозидов этого класса разрешен к применению в медицинской практике и является основой для лечения злокачественных новообразований и вирусных инфекций в настоящее время. Прогресс в этом актуальном направлении биоорганической химии компонентов нуклеиновых кислот, вероятно, связан с новыми фторирующими агентами, которые позволят синтезировать фторнуклеозиды с интересными биологическими свойствами, и более глубоким пониманием механизмов биологического действия нуклеозидов в целом при изучении биохимических свойств фторнуклеозидов.

### Список литературы

1. Qiu, X.-L. Recent advances in the synthesis of fluorinated nucleosides / X.-L. Qiu, X.-H. Xu, F.-L. Qing // *Tetrahedron*. – 2010. – Vol. 66. – P. 789–843.
2. Filler, R. Fluorine in medicinal chemistry: a century of progress and a 60-year retrospective of selected highlights / R. Filler, R. Saha // *Future Med. Chem.* – 2009. – Vol. 1, № 5. – P. 777–791.
3. Strunecka, A. Fluorine in medicine / A. Strunecka, J. Patocka, P. Connett // *J. Applied Biomedicine*. – 2004. – Vol. 2. – P. 141–150.
4. Liu, P. Fluorinated nucleosides: synthesis and biological implication / P. Liu, A. Sharon, C.K. Chu // *J. Fluor. Chem.* – 2008. – Vol. 129. – P. 743–766.
5. Probing the mechanistic consequences of 5-fluorine substitution on cytidine nucleotide analogue incorporation by HIV-1 reverse transcriptase / A.S. Ray [et al.] // *Antiv. Chem. Chemother.* – 2003. – Vol. 14, № 3. – P. 115–125.
6. Pankiewicz, K.W. Fluorinated Nucleosides / K.W. Pankiewicz // *Carbohydr. Res.* – 2000. – Vol. 327. – P. 87–105.
7. Begue, J.-P. Recent advances (1995–2005) in fluorinated pharmaceuticals based on natural products / J.-P. Begue, D. Bonnet-Delpon // *J. Fluor. Chem.* – 2006. – Vol. 127. – P. 992–1012.
8. Duschinsky, R. The synthesis of 5-fluoropyrimidines / R. Duschinsky, E. Plevin, C. Heidelberger // *J. Am. Chem. Soc.* – 1957. – Vol. 79. – P. 4559–4560.
9. Fluorinated pyrimidines, a new class of tumor-inhibitory compounds / C. Heidelberger [et al.] // *Nature*. – 1957. – Vol. 179. – P. 663–666.
10. N1-(Tetrahydrofuran-2-yl)-5-substituted uracils: Patent 4039546 USA, 544/313, CO7D 405/00 (200601/01) / S.A. Hiller [et al.]; Appl. No 05/572064 28.04.1975 // *C.A.* – 1977. – Vol. 87. – 168342h.

11. Nucleoside von fluororuckern-VI: Synthese und reaktivitat von 3'-fluoro- und 3'-chlor-3'-desoxy-thymidin / G. Etzold [et al.] // *Tetrahedron*. – 1971. – Vol. 27, № 12. – P. 2463–2472.
12. 3'-Substituted 2',3'-dideoxynucleoside analogues as potential anti-HIV (HTLV-III/LAV) agents / P. Herdewijn [et al.] // *J. Med. Chem.* – 1987. – Vol. 30, № 8. – P. 1270–1278.
13. 3'-Fluoro-2',3'-dideoxy-5-chlorouridine: Most Selective Anti-HIV-1 Agent among a Series among a Series of New 2'- and 3'-Fluorinated 2',3'-Dideoxynucleoside Analogues / A. Van Aerschot [et al.] // *J. Med. Chem.* – 1989. – Vol. 32, № 8. – P. 1743–1749.
14. Cihlara, T. Nucleoside and nucleotide HIV reverse transcriptase inhibitors: 25 years after zidovudine / T. Cihlara, A.S. Ray // *Antiv. Res.* – 2010. – Vol. 63. – P. 39–58.
15. Synthesis of 2',3'-Dideoxy-3'-fluorothymidine Using Individual Anomers of 1,5-Di-O-benzoyl-2,3-dideoxy-3-fluoro-D-erythro-pentofuranose as Glycosylating Agents / I.A. Mikhailopulo [et al.] // *Synthesis*. – 1993. – № 6. – P. 700–704.
16. 3'-Фтор-2',3'-дидезоксигуанозин, проявляющий цитостатическую: а.с. 1053474 СССР, МКИ4 С 07Н, 19/16; А 61 К, 31/70/ Г.В. Зайцева, И.А. Михайлопуло, Г. Коволлик, П. Ланген; Ин-т биоорг. химии АН БССР и Центральный Ин-т мол. Биологии АН ГДР – № 3546204. заявл. 8.02.82; опублик. 7.08.85 // *Открытия. Изобретения*. – 1985. – № 29. – С. 264.
17. A concise synthesis of 3'- $\alpha$ -fluoro-2',3'-dideoxyguanosine (FddG) via 3'- $\alpha$ -selective fluorination of 8,2'-thioanhydronucleoside / T. Torii [et al.] // *Tetrahedron Lett.* – 2006. – Vol. 47. – P. 6139–6141.
18. Enhanced in vitro inhibition of HIV-1 replication by 3'-fluoro-3'-deoxythymidine compared to several other nucleoside analogs/ H. Hartmann [et al.] // *AIDS Res. Hum. Retroviruses*. – 1988. – Vol. 4, № 6. – P. 457–466.
19. Inhibition of human and duck hepatitis B virus by 2',3'-dideoxy-3'-fluoroguanosine in vitro / I. Schoroder [et al.] // *Antiv. Res.* – 1998. – Vol. 37, № 1. – P. 57–66.
20. Facile Synthetic Method for 3'- $\alpha$ -Fluoro-2',3'-dideoxyadenosine / S. Takamatsu [et al.] // *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*. – 2003. – Vol. 22, № 5–8. – P. 711–713.
21. Herdewijn, P. Synthesis of nucleosides fluorinated in the sugar moiety. The Application of diethylaminosulfur trifluoride to the synthesis of fluorinated nucleosides / P. Herdewijn, A. Van Aerschot, L. Kerremans // *Nucleosides Nucleotides*. – 1989. – Vol. 8, № 1. – P. 65–96.
22. Synthesis and Antiviral and Cytostatic Properties of 3'-Deoxy-3'-fluoro- and 2'-Azido-3'-fluoro-2',3'-dideoxy-D-ribofuranosides of Natural Heterocyclic Bases / I.A. Mikhailopulo [et al.] // *J. Med. Chem.* – 1991. – Vol. 34, № 7. – P. 2195–2202.
23. 3'-Фтор-3'-дезоксирибонуклеозиды, проявляющие цитостатическую активность: а.с. 1500645 СССР, МКИ4 С 07Н 19/067, 19/167/ Н.Е. Пупейко, Т.И. Прикота, Г.Г. Сивец, Е.И. Квасюк, И.А. Михайлопуло, В.П. Рещиков, Н.М. Фертукова; Ин-т биоорг. химии АН БССР. – № 4345438. заявл. 18.12.1987; опублик. 15.08.89 // *Открытия. Изобретения*. – 1989. – № 30. – С. 108.
24. Conformational analysis of 3'-fluorinated A(2'-5')A(2'-5')A fragments. Relation between conformation and biological activity / J.E. Van den Boogaart [et al.] // *Eur. J. Biochem.* – 1994. – Vol. 221. – P. 759–768.
25. 2'-Chloro-2',3'-dideoxy-3'-fluoro-D-ribonucleosides: Synthesis, Stereospecificity, Some Chemical Transformations, and Conformational Analysis / I.A. Mikhailopulo [et al.] // *J. Org. Chem.* – 2003. – Vol. 68. – P. 5897–5908.
26. Nucleosides. XVIII. Synthesis of 2'-fluoro thymidine, 2'-fluoro uridine, and other 2'-halogeno-2'-deoxynucleosides / J.F. Coddington [et al.] // *J. Org. Chem.* – 1964. – Vol. 29, № 3. – P. 558–564.
27. Mengel, R. A Simple Synthesis of 2'-Deoxy-2'-fluorocytidine by Nucleophilic Substitution of 2,2'-Anhydrocytidine with Potassium Fluoride/Crown Ether / R. Mengel, R.A. Guschlbauer // *Angew. Chem., Int. Ed. Engl.* – 1978. – Vol. 17, № 7. – P. 225–226.

28. Inhibition of the subgenomic hepatitis C virus replicon in Huh-7 cells by 2'-deoxy-2'-fluorocytidine / L.J. Stuyver [et al.] // *Antimicrob. Agents Chemother.* – 2004. – Vol. 48, № 2. – P. 651–654.
29. Design, synthesis, and antiviral activity of 2'-deoxy-2'-fluoro-2'-C-methylcytidine, a potent inhibitor of hepatitis C virus replication / J.L. Clark [et al.] // *J. Med. Chem.* – 2005. – Vol. 48. – P. 5504–5508.
30. An Efficient and Diastereoselective Synthesis of PSI-6130: A Clinically Efficacious Inhibitor of HCV NS5B Polymerase / Wang P. [et al.] // *J. Org. Chem.* – 2009. – Vol. 74. – P. 6819–6824.
31. Process synthesis of PSI-7977: a nucleotide prodrug inhibitor of HCV in clinical trials // Ross B.R. [et al.] // XIX International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids: Abstracts. – Lyon, France, 29 August – 3 September, 2010. PA001. – P. 76.
32. Synthesis of 2-deoxy-2,2-difluoro-D-ribose and 2-deoxy-2,2'-difluoro-D-ribofuranosyl nucleosides / Hertel L.W. [et al.] // *J. Org. Chem.* – 1988. – Vol. 53, № 11. – P. 2406–2409.
33. Oxidation-reduction sequence for the synthesis of peracylated fluorodeoxy pentofuranosides / I.A. Mikhailopulo [et al.] // *Carbohydr. Res.* – 1995. – Vol. 278. – P. 71–89.
34. Zaitseva, G.V. Convergent syntheses and cytostatic properties of 2-chloro-2'-deoxy-2'-fluoroadenosine and its N7-isomer / G.V. Zaitseva [et al.] // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* – 1995. – Vol. 5, № 24. – P. 2999–3002.
35. Sivets, G.G. Synthesis and conformational analysis of 1'- and 3'-substituted 2'-deoxy-2'-fluoro-D-ribofuranosyl nucleosides / G.G. Sivets, E.N. Kalinichenko, I.A. Mikhailopulo // *Helv. Chim. Acta.* – 2007. – Vol. 90. – P. 1818–1836.
36. Chemical and enzymatic synthesis and antiviral properties of 2'-deoxy-2'-fluoroguanosine / G.V. Zaitseva [et al.] // *Nucleosides Nucleotides.* – 1999. – Vol. 18, № 4–5. – P. 687–688.
37. Synthesis and biological properties of adenine 2',3'-dideoxy-3'-amino-2'-fluoro-ribo- and -2'-amino-3'-fluoro-arabino-D-pentofuranosides / G.G. Sivets [et al.] // XIX International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids: Abstracts. – Lyon, France, 29 August – 3 September, 2010. – P. 88–89.
38. Wilds C.J. 2'-Deoxy-2'-fluoro- $\beta$ -D-arabinonucleosides and oligonucleotides (2'-F-ANA): synthesis and physicochemical properties / C.J. Wilds, M.J. Damha // *Nucleic Acids Res.* – 2000. – Vol. 28, № 18. – P. 3625–3635.
39. Sivets, G.G. Synthesis of C2'- $\beta$ -Fluoro-Substituted Adenine Nucleosides Via Pivaloyl Derivatives of Adenosine and 3-Deoxyadenosine / G.G. Sivets, E.N. Kalinichenko, I.A. Mikhailopulo // *Lett. Org. Chem.* – 2006. – Vol. 3, № 5. – P. 402–408.
40. Graful, A. Lodenosine. Anti-HIV, Reverse transcriptase inhibitor/ A. Graful, J. Silvestre, J. Castañer // *Drugs Future.* – 1998. – Vol. 23, № 11. – P. 1176–1189.
41. 2',3'-Dideoxy-2'-fluoro-ara-A. An acid-stable purine nucleoside active against human immunodeficiency virus (HIV) / V.E. Marquez [et al.] // *Biochem. Pharmacol.* – 1987. – Vol. 36. – P. 2719–2722.
42. Discovery and development of clofarabine: a nucleoside analogue for treating cancer / P.L. Bonate [et al.] // *Nature Reviews.* – 2006. – Vol. 5. – P. 855–863.
43. A new process for antineoplastic agent clofarabine / W. Bauta [et al.] // *Org. Proc. Res. Dev.* – 2004. – Vol. 8. – P. 889–896.
44. Fluorocarbohydrates in Synthesis. An Efficient Synthesis of 1-(2-Deoxy-2-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosyl)-5-iodouracil ( $\beta$ -FIAU) and 1-(2-Deoxy-2-fluoro- $\beta$ -D-arabinofuranosyl) thymine ( $\beta$ -FMAU) / C.H. Tann [et al.] // *J. Org. Chem.* – 1985. – Vol. 50. – P. 3644–3647.
45. Способ получения 2-хлор-9-(2-дезоксидеокси-2-фтор- $\beta$ -D-арабинофуранозил)аденина: пат. 13149 Респ. Беларусь, МПК (2009) C07H 1/00, C07H 19/00 / Е.Н. Калиниченко, Г.Г. Сивец; заявитель ГНУ «Ин-т биоорг. химии Национальной академии наук Беларуси». – № а 20091242; заявл. 17.08.2009; опубл. 30.08.2010 // *Афіцыйны бюл. / Нац. цэнтр інтэлектуал. уласнасці.* – 2010. – № 4. – С. 103.

46. Sivets, G.G. Synthesis of C2'- $\beta$ -fluoro-substituted purine nucleosides via new acyl derivatives of 2,6-dichloropurine D-riboside / G.G. Sivets, T.B. Boghok, E.N. Kalinichenko // XIX International Roundtable on Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids: Abstracts. – Lyon, France, 29 August – 3 September, 2010. – P. 92–93.

47. Synthesis and antiviral activity of purine 2',3'-dideoxy-2',3'-difluoro-D-arabinofuranosyl nucleosides / G.G. Sivets [et al.] // Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids. – 2009. – Vol. 28, № 5–6. – P. 519–536.

48. Parker, R. Enzymology of Purine and Pyrimidine Antimetabolites Used in the Treatment of Cancer / R. Parker // Chem Rev. – 2009. – Vol. 109. – P. 2880–2893.

49. Михайлопуло, И.А. Итоги и перспективы исследований компонентов нуклеиновых кислот в Беларуси / И.А. Михайлопуло, Е.Н. Калиниченко // Вести НАН Беларуси. Сер. хим. наук. – 2003. – № 4. – С. 31–39.

50. A Universal Biocatalyst for the Preparation of Base- and Sugar-Modified Nucleosides via an Enzymatic Transglycosylation / V.N. Barai [et al.] // Helv. Chim. Acta. – 2002. – Vol. 85, № 7. – P. 1901–1908.

51. Ohuri, H. 2'-Deoxy-4'-C-Etynyl-2-fluoroadenosine, a Nucleoside Reverse Transcriptase Inhibitor, Is Highly Potent Against All Human Immunodeficiency Viruses Type 1 and Has Low Toxicity / H. Ohuri // The Chemical Record. – 2006. – Vol. 6. – P. 133–143.

52. Activity against Human Immunodeficiency virus type 1, intracellular metabolism, and effects on human DNA polymerases of 4'-etynyl-2-fluoro-2'-deoxyadenosine / H. Nakata [et al.] // Antimicrob. Agents Chemother. – 2007. – Vol. 51. – P. 2701–2708.

## FLUORONUCLEOSIDES: SYNTHESIS, BIOLOGY AND APPLICATION IN MEDICINE

**G.G. Sivets, E.N. Kalinichenko**

*Institute of Bioorganic Chemistry of NAS Belarus, Minsk, Belarus*

The review is devoted to the methods of synthesis, studies of biological properties and stereochemical peculiarities of fluoronucleosides. The medical application of known fluorinated nucleosides as antiviral and anticancer agents was considered.