



รายงานการวิจัย

การสังเคราะห์ 2'-Deoxyuridine-5-Boronic Acid

Synthesis of 2'-Deoxyuridine-5-Boronic Acid

118

546.67 ส838ร

31011102359734

รศ.ดร.สุภาลักษณ์ ปรัชญาลิทธิกุล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

546.67
ส838ร

ได้รับทุนอุดหนุนวิจัย ประจำปี พ.ศ. 2537

มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ

การสังเคราะห์ 2'-Deoxyuridine-5-Boronic Acid

Synthesis of 2'-Deoxyuridine-5-Boronic Acid

สุภาลักษณ์ ปรัชญาสิทธิกุล

ภาควิชาเคมี คณะวิทยาศาสตร์ มหาวิทยาลัยศรีนครินทรวิโรฒ ประสานมิตร

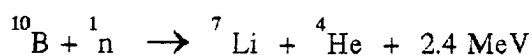
สุขุมวิท 23 กรุงเทพมหานคร 10110

บทคัดย่อ

การสังเคราะห์ 2'-deoxyuridine -5-boronic acid (3) สามารถทำได้โดยนำ 5-iodo-3',5'-bis (o-dimethyl-t-butylsilyl) -2'-deoxyuridine(4) มาทำปฏิกิริยา halogen-metal exchange กับ n-BuLi ที่ -74°C แล้วทำปฏิกิริยา boronation ต่อ โดยใช้ n-butyl borate ปริมาณมากเกินไป หลังจากนั้นทำปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสด้วย 50% $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ สามารถแยกสาร 3 ที่ต้องการได้ 19% พบว่าผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยาจะเพิ่มขึ้น ถ้าทำการแยกอนุพันธ์ silyl ของ 5-dihydroxyboryl-2'-deoxyuridine (5, 27%) ออกก่อน แล้วจึงกำจัดหมู่ silyl ออกภายหลัง โดยให้สาร 5 ทำปฏิกิริยากับ 50% $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสนี้เกิดได้รวดเร็วและได้สาร 3 ตามต้องการ จากการศึกษาทั้ง 2 กรณี จะได้ 2'-deoxyuridine เป็น by-product และได้วิเคราะห์โครงสร้างของผลิตภัณฑ์ โดยใช้ IR และ ^1H NMR Spectroscopy

บทนำ

ในปัจจุบันนักวิทยาศาสตร์ให้ความสนใจกับการรักษามะเร็ง โดยกระบวนการ Boron Neutron Capture Therapy (BNCT)¹ เป็นอย่างมาก วิธีนี้จะใช้สารประกอบโบรอนซึ่ง selective ต่อเซลล์มะเร็ง โดย ^{10}B จะเป็น nuclide ที่เข้าทำปฏิกิริยากับ thermal neutron^{2,3} ให้อนุภาคแอลฟา (^4He) ซึ่งสามารถเลือกทำลายเซลล์มะเร็งที่มีสารประกอบ ^{10}B อยู่



สาร organoboron โมเลกุลเป้าหมายที่สังเคราะห์ขึ้นใช้สำหรับ BNCT มีหลายชนิด เช่น อนุพันธ์ของกรดอะมิโน^{4,5} และนิวคลีโอไซด์⁶⁻⁸

สารประเภท 5-substituted pyrimidine⁹ และ pyrimidine nucleoside⁹ หลายชนิดมีฤทธิ์ต้านไวรัสและต้านมะเร็ง เช่น ใช้ 5-fluorouracil (5FU) และ 5-fluoro-2'-deoxyuridine¹⁰ สำหรับเคมีบำบัด ในการรักษามะเร็งมานานกว่า 10 ปี 5-iodo-2'-deoxyuridine¹¹ (1) เป็นยาต้านไวรัสที่รู้จักกันดีและเป็นที่ยอมรับจากองค์การอาหารและยา (FDA) แห่งสหรัฐอเมริกา

5-iodo-2'-deoxyuridine เป็นสารนิวคลีโอไซด์ที่สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยา iodination ของ 2'-deoxyuridine โดยใช้ ceric ammonium nitrate (CAN) เป็นตัวเร่งปฏิกิริยา¹²

นอกจากนี้ยังมีผู้สังเคราะห์สารโบรอนที่เป็นอนุพันธ์ pyrimidine และ pyrimidine nucleoside⁶⁻⁸ สำหรับการรักษาด้วยวิธี BNCT การสังเคราะห์สารดังกล่าวเริ่มจาก 5-halopyrimidine หรืออนุพันธ์ 5-halopyrimidine nucleoside ทำปฏิกิริยา halogen-metal exchange แล้วตามด้วยปฏิกิริยา boronation และไฮโดรลิซิสตามลำดับ เช่น 5-dihydroxyboryl uracil^{6,7} (2) ซึ่งสังเคราะห์จากปฏิกิริยา boronation ของ 5-bromo-2,4-bis (benzyloxy) pyrimidine โดยใช้ n-BuLi/-85°C ตามด้วย B(OBu)₃ ปริมาณมากเกินไป หลังจากไฮโดรลิซิสแล้วได้ 5-(dihydroxyboryl)-2,4-bis(benzyloxy) pyrimidine ซึ่งทำปฏิกิริยา hydrogenation ต่อไปโดยใช้ H₂/Pd/C ได้ผลิตภัณฑ์ 2 ร้อยละ 65 เนื่องจาก 2'-deoxyuridine-5-boronic acid (3)⁶ เป็นสารที่มีฤทธิ์ยับยั้ง replication ของ HSV-1 ร้อยละ 91-97 ที่ความเข้มข้น 800 μ M ไม่เป็นพิษต่อ host vero cell ที่ความเข้มข้น 1,600 μ M ผู้วิจัยคาดว่าสาร 3 น่าจะมีศักยภาพนำมาใช้สำหรับกระบวนการ BNCT ได้

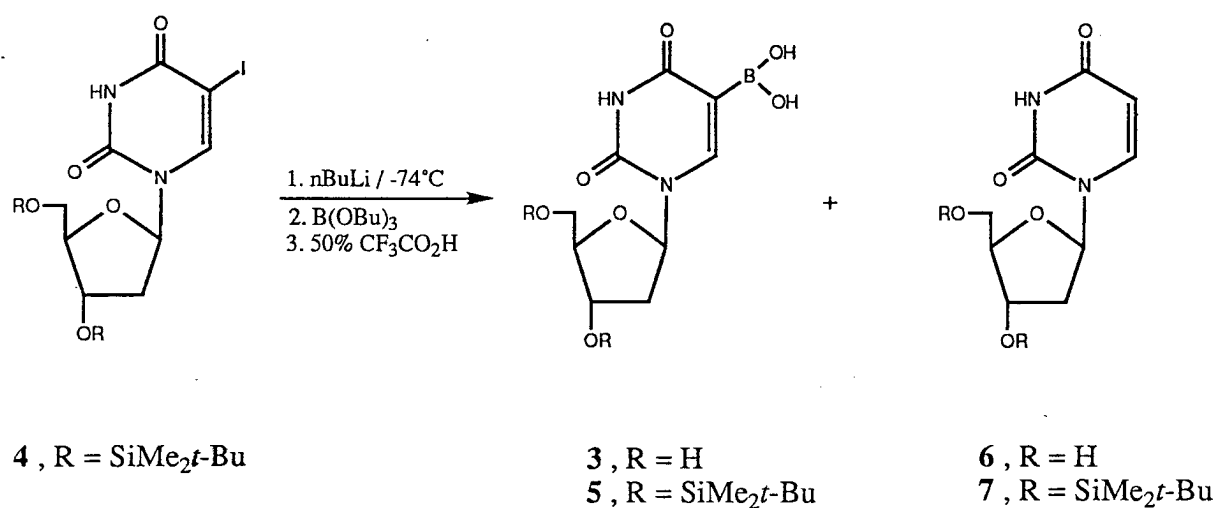
การวิจัยนี้เพื่อสังเคราะห์ 2'-deoxyuridine-5-boronic acid (3) จาก protected 5-iodo-2'-deoxyuridine(4)

ผลการทดลอง การสังเคราะห์นิวคลีโอไซด์ 3 สามารถทำได้ 2 วิธี

วิธีที่ 1 ให้ 5-iodo-3',5'-bis (o-dimethyl-t-butylsilyl)-2-deoxyuridine (4) ทำปฏิกิริยากับ n-BuLi แล้วทำปฏิกิริยา boronation ต่อโดยใช้ butyl borate ปริมาณมากเกินไป หลังจากนั้นทำปฏิกิริยาต่อโดยใช้สารละลาย 50% CF₃CO₂H เพื่อกำจัดหมู่ silyl ออก แยกสารได้ 2 ชนิดคือ 3 (19%) และ 2'-deoxyuridine (4) 68%

วิธีที่ 2 ทำการทดลองเช่นเดียวกับวิธีที่ 1 แต่ทำการแยกอนุพันธ์ silyl 5 (27%) ออกก่อน แล้วจึงนำไปทำปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสในสารละลายกรด วิธีนี้จะทำให้ผลิตภัณฑ์จากปฏิกิริยา boronation เพิ่มขึ้น และ

สามารถกำจัดหมู่ silyl ทั้งสองที่ตำแหน่ง 3',5' ของสาร 5 ได้อย่างรวดเร็วด้วย 50% $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ได้นิวคลีโอไซด์ 3 (quantitatively) กรณีนี้ by-product ที่แยกได้คือ 3',5'-bis(0-dimethyl-*t*-butyl) 2'-deoxyuridine (7) 61% ดังแสดงใน scheme I



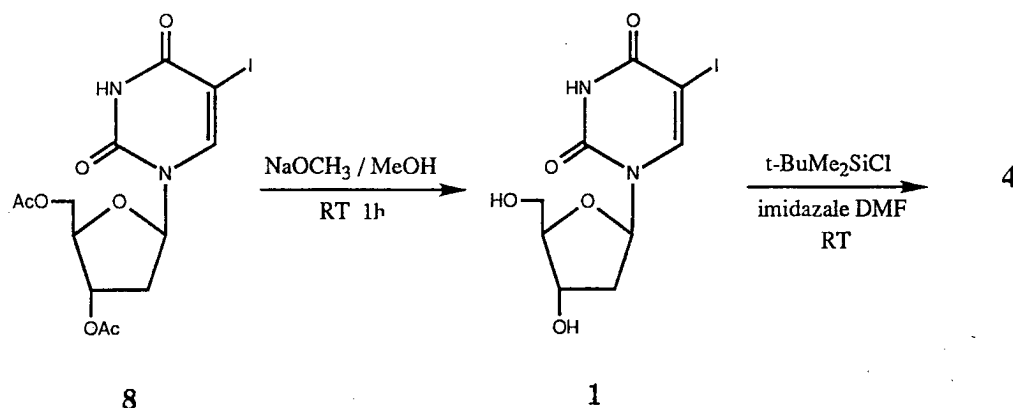
Scheme I

อภิปรายผล

2'-deoxyuridine-5-boronic acid⁶ 3 เป็นสารนิวคลีโอไซด์ที่สังเคราะห์ได้จากสารตั้งต้น 5-bromo-3',5'-bis(0-trimethylsilyl)-2'-deoxyuridine ทำปฏิกิริยา metal-halogen exchange กับ $n\text{-BuLi}$ ที่อุณหภูมิ -50°C และตามด้วยปฏิกิริยา boronation กับ $\text{B}(\text{OBu})_3$ / -65°C ซึ่งมี hexamethylphosphoric triamide (HMPT) อยู่ด้วย การทดลองนี้เริ่มจาก 5-bromo 2'-deoxyuridine ซึ่งหมู่ 3',5'-diOH ถูก protect ด้วยหมู่ trimethylsilyl สถานะการทดลองนี้ค่อนข้างซับซ้อน และได้ผลิตภัณฑ์ 3 เพียงร้อยละ 12 ถ้าทำ

การทดลองโดยไม่มี HMPT อยู่ในปฏิกิริยาจะได้สาร 3 ลดลงเหลือร้อยละ 7 เท่านั้น ในการวิจัยนี้ได้พยายามดัดแปลงวิธีการสังเคราะห์สาร 3 เพื่อให้ได้ผลผลิตสูงขึ้น โดยใช้สารตั้งต้น 5-iodo-2'-deoxyuridine 4 ซึ่งหมู่ OH ที่ตำแหน่ง 3', 5' ถูก protect ด้วยหมู่ $\text{SiMe}_2\text{-}t\text{-Bu}$ ซึ่งต่างจากที่มีผู้รายงานไว้ข้างต้น ผลการทดลองจากวิธีที่ 1 นั้นได้กำจัดหมู่ Silyl ที่ 3', 5' ออกโดยทำปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสด้วยสารละลาย 50% $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ที่ $0-5^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง วิธีที่ 1 นี้เป็นปฏิกิริยาต่อเนื่อง ผลิตภัณฑ์ที่ได้นำมาแยกให้บริสุทธิ์ด้วยโครมาโทกราฟีแบบคอลัมน์ได้สาร 3 บริสุทธิ์ 19% และ 2'-deoxyuridine ปริมาณมาก 68% ซึ่งคาดว่าอาจเป็นสารที่เกิดจากปฏิกิริยา deboronation ของนิวคลีโอไซด์ 3 ดังนั้นจึงได้ศึกษาการสังเคราะห์สาร 3 ตามวิธีการที่ 2 โดยแยกผลิตภัณฑ์ protected 5-boronic acid 5 ออกก่อนพบว่าแยกสาร 5 บริสุทธิ์ได้ 27% เมื่อนำสาร 5 มาทำปฏิกิริยากับ 50% $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ที่ $0-5^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 1 ชั่วโมง ได้สาร 3 ที่ต้องการ (quantitatively)

สารตั้งต้น 4 สังเคราะห์ได้จากปฏิกิริยาระหว่างสาร 1 และ $t\text{-BuMe}_2\text{SiCl}$ ใน DMF ที่อุณหภูมิห้อง ซึ่งมี imidazole เป็นตัวเร่ง¹³ นอกจากนั้นการเตรียมสาร 4 ยังสามารถเริ่มต้นจาก 2'-deoxyuridine โดยการ protect หมู่ 3', 5'-diOH ของ 2'-deoxyuridine ด้วยหมู่ acetoxy ก่อน¹⁴ แล้วจึงทำปฏิกิริยา iodination โดยใช้ I_2/CAN ¹² จะได้อนุพันธ์ 5-iodo-3', 5'-diacetoxy 8 เมื่อนำสาร 8 มาทำปฏิกิริยากับ $\text{NaOCH}_3/\text{CH}_3\text{OH}$ เพื่อกำจัดหมู่ 3', 5'-diacetyl ในที่สุดจะได้สาร 5-iodo-2'-deoxyuridine ซึ่งเปลี่ยนเป็นอนุพันธ์ 3', 5'-di OSiMe₂-*t*-Bu 4 ดัง Scheme II



Scheme II

สรุป

เราได้พัฒนาวิธีการสังเคราะห์ 2'-deoxyuridine-5-boronic acid 2 วิธีโดยเริ่มต้นจาก 5-iodo-2'-deoxyurine(4) พบว่าวิธีที่ 2 จะได้ผลิตภัณฑ์มากกว่าวิธีการสังเคราะห์ที่ได้มีผู้รายงานไว้⁶ ถึงแม้ว่าร้อยละของผลิตภัณฑ์ที่ได้จะสูงกว่าไม่มากนัก แต่มีข้อชี้แนะว่าหมู่ 5 B(OH)₂ นั้นสลายได้ง่ายมากในสถานะการทำปฏิกิริยา boronation ดังนั้นในการศึกษาขั้นต่อไป การเพิ่มหมู่ B(OH)₂ ที่ตำแหน่ง 5 ของ pyrimidine nucleoside นั้นน่าจะใช้ในรูป protected boronic acid ที่เสถียรแต่สามารถเปลี่ยนเป็นหมู่ B(OH)₂ ได้หลังจากแยก 5-boronated nucleoside ออกจากปฏิกิริยา boronation แล้ว

การทดลอง ตัวทำละลายอินทรีย์และสารเคมี ทำให้บริสุทธิ์ก่อนนำมาใช้

สารเคมี 5-iodo-2'-deoxyuridine, *t*-BuMe₂SiCl, imidazole, DMF, THF, *n*-BuLi, B(OBu)₃, CF₃CO₂H ตัวทำละลายอินทรีย์ชนิดต่างๆ และซิลิกาเจล

อุปกรณ์ เครื่องแก้วสามัญ คอลัมน์ เครื่องกลั่นระเหยลดความดัน เครื่องหาจุดหลอมเหลว

IR spectrophotometer Perkin Elmer 298

NMR spectrometer Varian XL-300 MHz

Mass spectrometer Finnigan 4021 (Data system InCOS 2100)

การสังเคราะห์ 2'-deoxyuridine-5-boronic acid (3)

วิธีที่ 1 ละลายสาร 4 (1.0 mmole) ใน THF ที่กลั่นใหม่ (40 ml) ทำให้เย็นที่ -74°C/N₂ ค่อยๆ เติมสารละลาย *n*-BuLi 2.5 mmole แล้วให้ทำปฏิกิริยากันประมาณ 10 นาที เติม butyl borate 3.0 mmole ควบคุมอุณหภูมิให้อยู่ระหว่าง -78°C ถึง -70°C เป็นเวลา 4 ชั่วโมง ปล่อยให้อุณหภูมิสูงขึ้นถึง 0°C แล้วเติมสารละลาย 50% CF₃CO₂H 5 ml ให้ทำปฏิกิริยาต่ออีก 1 ชั่วโมงที่ 0-5°C นำไปประเหยด้วยเครื่องกลั่นลดความดัน ได้ของเหลวน้ำมันสีเหลือง แยกให้บริสุทธิ์ด้วย silica gel column ซะด้วย CHCl₃ : C₂H₅OH (2:1) ได้ 2'-deoxyuridine 6 156 mg (68%) และนิวคลีโอไซด์ 3 50 mg (19%) ตามลำดับ ตกผลึกสาร 3 ในเมทานอล mp 225-226°C dec. [Lit⁶ mp 226-227°C dec.]

วิธีที่ 2 สังเคราะห์สาร 5 ก่อนแล้วนำไปทำปฏิกิริยาไฮโดรลิซิสเพื่อกำจัดหมู่ SiMe₂*t*-Bu

ละลายสาร 4 (0.5 mmole) ใน THF 40 ml ทำให้เย็นที่อุณหภูมิ -74°C/N₂ เติม *n*-BuLi (1.5 mmole) และ butyl borate (1.5 mmole) ให้ทำปฏิกิริยาทำนองเดียวกับวิธีแรก หลังปฏิกิริยาสิ้นสุดแล้วแยกสารได้ 2 ชนิด ตามลำดับดังนี้ คือ 2'-deoxyuridine 7 140 mg (61%) ตกผลึกในเอทานอล mp 110-111 °C และสาร 5 67 mg (27%) ตกผลึกในเมทานอล-น้ำ mp 133-136°C

นำสาร 5 (10 mg) มาทำปฏิกิริยากับ 50% $\text{CF}_3\text{CO}_2\text{H}$ ที่ $0-5^\circ\text{C}$ เป็นเวลา 1 ชั่วโมงระเหยตัว ทำละลายออก และล้างด้วยอีเทอร์ ได้สาร 3 เป็นของแข็งสีขาว 6 mg (quantitatively) ข้อมูล IR และ ^1H NMR ของสาร 5 และ 7 แสดงในตาราง 1

ตาราง 1 ข้อมูล IR ^1H NMR และ MS ของนิวคลีโอไซด์ 5 และ 7

สาร	IR (Neat) cm^{-1}	^1H NMR (CDCl_3) δ	MS, m/z (rel intensity)
5	2850, 2920, 2950, 1660, 1710 (br.CO) 1465	0.08-0.09 (m, CH_3) 0.84-1.3 (m, tBu) 2.07, 2.34 (m, $2'\text{H}$) 3.79 (m, $5'\text{CH}_2$) 3.99 (m, $4'\text{H}$) 4.43 (m, $3'\text{H}$) 6.25 (t, $J=6.8$ Hz, $1'\text{H}$) 6.45 (s, 2 B(OH) $_2$) 8.15 (s, H-6) 8.7 (br s, NH)	73(98), 81(100), 89(48), 155(54)
7	3180 (br. NH) 2850, 2920, 2950 1690 (br.CO) 1460	0.11-0.74 (m, CH_3) 0.89-0.92 (m, tBu) 2.1, 2.3 (m, $2'\text{H}$) 3.78 (m, $5'\text{CH}_2$) 3.92 (m, $4'\text{H}$) 4.43 (m, $3'\text{H}$) 6.28 (t, $J=6.3$ Hz, $1'\text{H}$) 5.67, 7.90 (dd, $J=8.4$ Hz, H-5, H-6) 8.17 (br.NH)	41(22), 57(57), 73(100), 133(36), 267(26), 287(22)

เอกสารอ้างอิง

1. Locher, G.L. *J.Rentgeno.* 1963, 36, 1.
2. Soloway, A.H. In : *Progress in Boron Chemistry*, Steinberg, H.; Mc Closkey, A.L., eds. mac Millan Co. New York, 1964, 1, 203.
3. Yamamoto, Y. *Pure & Appl. Chem.* 1991, 63, 412.
4. Lindquist, R.N.; Nguyen, A.C. *J.Am. Chem. Soc.* 1977, 99, 6435.
5. Spielvogel, B.F.; Das, M.K.; McPhail, A.T.; Onan, K.D. *J.Am. Chem. Soc.* 1980, 102, 6343.
6. Schinazi, R.F.; Prusoff, W.H. *J.Org. Chem.* 1985, 50, 841.
7. Schinazi R.F.; Prusoff, W.H. *Tetrahedron Lett.* 1978, 4981.
8. Yamamoto, Y.; Seko, T.; Nemoto, H. *J.Org.Chem.* 1989, 54, 4734.
9. Lin, T.S.; Guo, J-Y., Schinazi, R.F.; Chu,C.K.; Xiang, J-N.; Prusoff, W.H. *J. Med. Chem.* 1988, 31, 336.
10. Heidelberger, C. In: *Pyrimidine and Pyrimidine Antimetabolites in Cancer Medicine*, Holland, J.F.; Frei, E., eds. Lea & Febiger, Philadelphia, 1984, 801.
11. Reist,E.J.; Sturm, P.A.; Pong, R.Y.; Tanga, M.J.; Sidwell,R.W. In : *Nucleotide Analogues as Antiviral Agents*, Martin, J.C., ed. American Chemical Society, Washington, 1989, 17.
12. Asakura, J-i.; Robins, M.J. *Tetrahedron Lett.* 1988, 29, 2855.
13. Nair, V.; Turner, G.A.; Buenger, G.S.; Chamberlian, S.D. *J.Org. Chem.* 1988, 53, 3051.
14. Gregoire, R.J.; Neilson, T. *Can.J.Chem.* 1978, 56, 487.