

Univerzitet u Novom Sadu
TEHNOLOŠKI FAKULTET
Katedra za primenjene hemije

Bulevar Cara Lazara 1
21000 Novi Sad

УНИВЕРЗИТЕТ У НОВОМ САДУ
ТЕХНОЛОШКИ ФАКУЛТЕТ

Број 020-260

24. 09. 19. 98. год.
НОВИ САД

NASTAVNO-NAUČNOM VEĆU TEHNOLOŠKOG FAKULTETA

PREDMET: Izveštaj o urađenoj doktorskoj disertaciji mr Gordane Četković

Nastavno-naučno veće Tehnološkog fakulteta, na I sednici održanoj 21.9.1998. godine, formiralo je Komisiju za ocenu urađene doktorske disertacije kandidata mr Gordane Četković u sledećem sastavu:

1. dr Božidar Lj. Milić, red.profesor Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, predsednik
2. dr Stevan Lajšić, red.profesor Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, mentor, član
3. dr Velimir Popsavin, vanr. profesor Prirodno-matematičkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu, član

Komisija u navedenom sastavu je pregledala doktorsku disertaciju mr Gordane Četković i Nastavno-naučnom veću podnosi sledeći

IZVEŠTAJ

Doktorska disertacija kandidata mr Gordane Četković, pod nazivom "SINTEZA 2',3'-DIDEOKSINUKLEOZIDA", prikazana je na 147 strana i sadrži 54 šeme, 3 tabele, 49 slika i 103 literaturna navoda i podeljena je u devet poglavlja: Uvod, Opšti deo, Naši radovi, Eksperimentalni deo, Zaključak, Literatura, Skraćenice, Prilog i Biografija.

U prvom delu, u Uvodu, kandidat je ukazao na značaj sinteze 2',3'-dideoksinukleozida, s obzirom da znatan broj ovih jedinjenja poseduje anti-virusnu odnosno anti-HIV aktivnost. Zato je osnovni cilj rada bio sinteza derivata 2',3'-dideoksitimidina. Nov pristup sintezi ovih nukleozida zasnovan je na višefaznoj transformaciji D-ksiloze u pogodno funkcionalizovane derivate koji bi kuplovanjem sa nukleinskom bazom dali nukleozide sa β -konfiguracijom na anomernom centru. Takođe, cilj rada bio je i ispitivanje izomerizacije nekih derivata D-šećera u odgovarajuće L-stereoizomere radi eventualne sinteze L-izomera 2',3'-dideoksinukleozida.

U poglavlju "Opšti deo", na osnovu dostupnih literaturnih podataka, opisane su sintetičke metode koje se koriste za dobijanje 2',3'-dideoksinukleozida. Prikazane su kako metode koje se zasnivaju na preuređenju "šećernog

dela“ postojećeg nukleozida, tako i postupci kuplovanja nukleinske baze sa pogodno funkcionalizovanim šećernim derivatima.

U delu rada pod nazivom "Naši radovi" detaljno su opisane hemijske transformacije D-ksiloze u derivate pogodne za reakcije kuplovanja, mehanizmi reakcija kao i nastali proizvodi. Takođe su detaljno prikazane reakcije u kojima su ispitivane inverzije konfiguracije šećernih derivata D-serije u L-stereoizomere.

U poglavlju "Eksperimentalni deo" prikazani su postupci za dobijanje derivata D-ksiloze pogodnih za reakcije kuplovanja, kao i uslovi pod kojima su izvedene ove reakcije. Isto tako prikazani su i eksperimentalni rezultati reakcija izomerizacije nekih derivata D-šećera u derivate L-serije.

Na osnovu svega izloženog kandidat je došao do sledećih zaključaka:

U prvom delu ovog rada ostvarena je sinteza 3'-azido-5'-*O*-benzoil-3'-deoksi- β -D-timidina (10), 3'-azido-3'-deoksi- β -D-timidina (11) i 3'-azido-5'-*O*-benzoil-3'-deoksi-2'-*O*-metansulfonili- β -D-timidina (12) iz kojih se, preko 2,2'-anhidro-3'-azido-2',3'-deoksitimidina (10a), može dobiti AZT (I). U okviru ove sinteze razrađeni su postupci za dobijanje 1,2-di-*O*-actil-3-azido-3-deoksi- β -D-ribofuranoze (7), koja kuplovanjem sa bazom prevashodno daje β -anomer nukleozida.

U tom cilju prvo je kiselo-katalizovanom kondenzacijom D-ksiloze i ciloheksanona dobijena 1,2:3,5-di-*O*-cikloheksiliden- α -D-ksilofuranoza (1) (74%). Selektivnom hidrolizom uklonjena je 3,5-acetalna funkcionalna grupa, pri čemu nastaje 1,2-*O*-cikloheksiliden- α -D-ksilofuranoza (2) (85%). 1,2-*O*-Cikloheksilidenski derivat 2 je pogodan intermedijer za dalje transformacije u derivate sa *ribo*-konfiguracijom (7 i 18).

Esterifikacijom primarne hidroksilne grupe jedinjenja 2 benzoil-hloridom u smeši anhidrovanog metilen-hlorida i piridina dobijen je 5-*O*-benzoil derivat 3 (89.5%). Reakcijom jedinjenja 3 i *p*-toluensulfonil-hlorida u piridinu dobijen je 5-*O*-benzoil-3-*O*-tozil derivat 4 (77%).

3-*O*-Sulfoniloksi derivat 4 dobijen je i "one-pot" postupkom, koji uključuje najpre selektivno benzoilovanje 5-OH grupe, a zatim tozilovanje sekundarne hidroksilne grupe jedinjenja 2. Prinos jedinjenja 4 ostvaren "one-pot" postupkom nije značajno niži (67%) u odnosu na postupak koji obuhvata dve faze(69%) te se može smatrati pogodnijim za sintezu jedinjenja 4.

S obzirom da supstitucija C-3 toziloksi grupe pretstavlja pogodnu metodu za stereospecifično uvođenje azido funkcionalne grupe u molekul šećera, u sledećoj fazi sinteze, reakcijom jedinjenja 4 i natrijum-azida dobijen je 3-azido derivat 5. Reakcija nukleofilne supstitucije 3-*O*-tozil grupe jedinjenja 4 ostvarena je pod različitim reakcionim uslovima (temperatura 100-160°C, vreme 12-48 sati) uz upotrebu različitih rastvarača (HMPA, DMSO, DMF). Utvrđeno je da je reakcijom tozilestra 4 sa viškom natrijum-azida u HMPA (120°C, 24 sata) ostvaren najbolji prinos (43%) glavnog reakcionog proizvoda 3-azido derivata 5.

Supstitucija C-3 toziloksi grupe u molekulu 4, bez obzira na reakcione uslove, praćena je konkurentnom reakcijom eliminacije, te je pored azido derivat 5 izolovan i olefin 6 (14.3%).

U sledećoj fazi sinteze ostvareno je hidrolitičko uklanjanje 1,2-*O*-cikloheksilidenske grupe jedinjenja 5 dejstvom smeše AcOH/Ac₂O/H₂SO₄ (10:1;0.5) u anhidrovanom metilen-hloridu. Dobijena je smeša anomera 1,2-*O*-acetil derivata 7 (90%).

Smeša α/β anomera jedinjenja 7 dobijena je i alternativnim sintetičkim pravcem (Šema 3.4). Acetolizom 3-*O*-tozil derivata 4 dobijena je smeša anomera 1,2-di-*O*-acetil-3-tozil derivata 8 (69%). Zatim je reakcijom jedinjenja 8 i viška natrijum-azida u DMF ostvarena supstitucija C-3 toziloksi grupe azidnom grupom, pri čemu je dobijena smeša anomera jedinjenja 7 (36%). Pošto je sintetičkim pravcem 4→8→7 ostvaren niži prinos proizvoda 7 (25%; 39% iz sintetičkog pravca 4→5→7) uz nepovoljniji odnos α/β anomera, smatra se da je sintetički pravac 4→5→7 prihvatljiviji za sintezu jedinjenja 7.

Metodom po Vorbrüggenu ostvarena je kondenzacija jedinjenja 7 i timina. Reakcija je izvedena u acetonitrilu u prisustvu HMDS, TCS i TFS, pri čemu je dobijen očekivani β -nukleozid 9 (73%). Nukleozid 9 je alternativno dobijen, u prinosu od 69%, kuplovanjem jedinjenja 7 i prethodno siliranog timina u anhidrovanom metilen-hloridu u prisustvu EtAlCl₂ kao agensa za kuplovanje.

U sledećoj fazi sinteze izvršena je hidroliza acil grupa u molekulu 9. Dejstvom zasićenog metanolnog rastvora kalijum-karbonata na jedinjenje 9 ostvarena je parcijalna hidroliza 2'-*O*-acetil grupe pri čemu je dobijen 5'-*O*-benzoil nukleozid 10 (70%). Totalna hidroliza estarskih grupa u molekulu nukleozida 9 ostvarena je dejstvom NaOMe pri čemu nastaje nukleozid 11 (76%). Reakcijom jedinjenja 10 i metansulfonil-hlorida u anhidrovanom piridinu dobijen je 2'-*O*-mezil derivat 12 (65%).

Nukleozidi 10, 11 i 12 su pogodni intermedijeri za dalje modifikacije kako do AZT tako i do različitih 2'-halosupstituisanih derivata AZT.

U drugom delu rada ostvarena je sinteza 2',3'-dideoksitimidina (21). Kao polazno jedinjenje za ovu sintezu poslužio je 1,2-*O*-cikloheksilidenski derivat ksiloze 2. Acetilovanjem jedinjenja 2 dobijen je odgovarajući diacetat 13 (98%).

Reakcijom jedinjenja 13 i etantiola u prisustvu koncentrovane hlorovodonične kiseline dobijen je dietilditioacetal 14 (84%). Etantioliza derivata 13, koji je *ksilo*-konfiguracije, odvija se uz njegovu inverziju na C-2 i C-3 pri čemu nastaje jedinjenje 14 *ribo*-konfiguracije.

Deacetilovanjem jedinjenja 14 dejstvom NaOMe dobijen je odgovarajući diol 15 (90.5%). Selektivnim benzoilovanjem diola 15 ekvimolarnom količinom benzoil-hlorida u anhidrovanom piridinu dobijen je 5-*O*-benzoil derivat 16 u kvantitativnom prinosu (91.9%).

5-*O*-Benzoil derivat 16 sa slobodnom 4-OH pretstavlja pogodan sintetički prekursor za dobijanje furanoznog derivata koji bi reakcijom sa timinom mogao

dati β -anomer 2',3'-dideoksinukleozida. Oksidativnim uklanjanjem tioacetalnih grupa u prisustvu *N*-bromsukcinimida dobijeni su proizvodi 17 i 18.

Reakcijom jedinjenja 16 i *N*-bromsukcinimida u apsolutnom metanolu dobijen je metil β -furanozid 17 (90%). Pošto acetolizom jedinjenja 17 nije dobijen 1-*O*-acetil derivat 18, ovo jedinjenje je dobijeno je reakcijom jedinjenja 16 i *N*-bromsukcinimida u smeši AcOH/MeCN u prisustvu natrijum-acetata u prinosu od 86%. Ovo je nova reakcija u hemiji monosaharida i predstavlja dobru osnovu za razvoj nove, opšte metode za dobijanje glikozil-acetata.

S obzirom da se na C-2 atomu jedinjenja 18 nalazi supstituent (SEt) u α -položaju, u narednoj fazi ostvarena je sinteza isključivo β -anomera nukleozida. Reakcijom jedinjenja 18 i siliranog timina u prisustvu EtAlCl₂ u anhidrovanom metilen-hloridu dobijen je 5'-*O*-benzoil-2',3'-dideoksi-2',3'-di-*S*-etil-2',3'-ditio- β -D-timidin (19) (72%).

U završnoj fazi ovog dela istraživanja ostvarena je katalitička desulfurizacija nukleozida 19 do nukleozida 20, a zatim je debenzoilovanjem nukleozida 20 dobijen 2',3'-dideoksitimidin (21). Dejstvom RaNi na jedinjenje 19 u etanolu na temperaturi ključanja reakcione smeše u toku 2 sata dobijen je nukleozid 20 u prinosu od 62%. 5'-*O*-Benzoil zaštitna grupa uklonjena je dejstvom 1M metanolnog rastvora NaOMe na nukleozid 20 pri čemu je dobijen 2',3'-dideoksitimidin u prinosu od 82%.

U cilju dobijanja nukleozida L-serije, u trećem delu ovog rada ispitana je mogućnost konverzije *D-ribo* derivata 15 u *L-likso* izomer. Naime, smatrano je da će reakcijom mezilovanja jedinjenja 15 nastati dimezilat 15*b* i da će se nukleofilna supstitucija primarne i sekundarne meziloksi grupe odvijati uz inverziju konfiguracije. Međutim, reakcijom jedinjenja 15 i metansulfonil-hlorida u smeši anhidrovanog piridina i metilen-hlorida dobijen je 2,5-tioanhidro derivat 22 (66%).

U sledećoj fazi ispitana je reaktivnost 4-metansulfoniloksi grupe prema acetatnom jonu kao nukleofilu. Reakcijom jedinjenja 22 i kalijum-acetata u ključalom anhidridu sirćetne kiseline dobijen je 4-*O*-acetil derivat 23 (60%).

Dalji tok istraživanja obuhvata proučavanje hemijskog ponašanja, pod istim reakcionim uslovima, dimetilacetala 25, koji je dobijen u dve sintetičke faze polazeći iz dietilditioacetala 14. Oksidativno uklanjanje tioacetalnih grupa ostvareno je reakcijom jedinjenja 14 i *N*-bromsukcinimida u apsolutnom metanolu. Pri tome je dobijen dimetilacetal 24 (75%). Deacetilovanjem jedinjenja 24 dobijen je odgovarajući diol 25 u prinosu od 89%. Reakcijom dimetilacetal diola 25 i metansulfonil-hlorida u smeši anhidrovanog piridina i metilen-hlorida takođe nastaje cikličan proizvod, 2,5-tioanhidro derivat 22 (72%).

Takođe je ispitana reaktivnost 4-*O*-mezil grupe jedinjenja 26 prema acetatnom jonu kao nukleofilu. Slično 2,5-anhidro derivatu 22 i jedinjenje 26 lako reaguje sa natrijum-acetatom u ključalom anhidridu sirćetne kiseline, pri čemu nastaje odgovarajući acetat 27 u prinosu od 62%.

Na osnovu svega izloženog, članovi Komisije smatraju da doktorska disertacija kandidata mr Gordane Četković zadovoljava sve relevantne kriterijume koji su neophodni za sticanje akademskog zvanja doktora nauka. Stoga, Komisija predlaže Nastavno-naučnom veću Tehnološkog fakulteta Univerziteta u Novom Sadu da se rad mr Gordane Četković "SINTEZA 2',3'-DIDEOKSINUKLEOZIĐA", prihvati i da se kandidat pozove na javnu usmenu odbranu.

Članovi Komisije:

Dr Božidar Lj. Milić, red.prof, predsednik

Dr Stevan Lajšić, red.prof, mentor, član

Dr Velimir Popsavin, vanr. prof, član