

КОРЧЕВСКАЯ Елена Владимировна Корчевская

**КИНЕТИКА И МЕХАНИЗМ АЗИДИРОВАНИЯ
5'-О-БЕНЗОИЛ-2,3'-АНГИДРОТИМИДИНА**

02.00.03-органическая химия

Автореферат

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Санкт-Петербург
2004

Работа выполнена в Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования Санкт-Петербургском государственном технологическом институте (техническом университете).

Научный руководитель: доктор химических наук, профессор
Островский Владимир Аронович

Научный консультант: кандидат химических наук
Малин Александр Александрович

Официальные оппоненты: доктор химических наук, профессор
Гинак Анатолий Иосифович
доктор химических наук, профессор
Кузнецов Леонид Леонидович

Ведущая организация: Санкт-Петербургская государственная химико-фармацевтическая академия Минздрава РФ, г. Санкт-Петербург.

Защита состоится «20» июня 2004 г. в 15⁰⁰ часов на заседании Диссертационного совета Д 212.230.02 при Государственном образовательном учреждении высшего профессионального образования Санкт-Петербургском государственном технологическом институте (техническом университете) по адресу: 190013, Санкт-Петербург, Московский пр., 26.

С диссертацией можно ознакомиться в библиотеке Государственного образовательного учреждения высшего профессионального образования Санкт-Петербургского государственного технологического института (технического университета).

Ваш отзыв в одном экземпляре, заверенный печатью, просим направлять на имя ученого секретаря.

Автореферат разослан «15» 03 2004 г.

Ученый секретарь

Диссертационного совета Д 212.230.02

К.Х.Н. Соколова К.Б. 

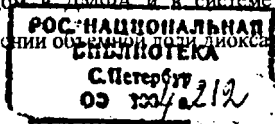
ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы Темпы распространения ВИЧ-инфекции позволяют говорить о реальной угрозе мировой пандемии СПИДа. Одним из важнейших факторов сдерживания эпидемии являются синтетические лекарственные средства, главным образом - ингибиторы ферментов ВИЧ. Важнейшую роль в терапии СПИДа играют ингибиторы обратной транскриптазы ВИЧ: 3'-азидотимидин (АЗТ, Тимазид) и его производные (5'-Н-фосфонат АЗТ, Фосфазид), а также другие аномальные нуклеозиды - производные тимидина ((ШТ и др.). Стоимость подобных препаратов на мировом рынке лекарственных средств велика, что ограничивает их доступность. Поэтому актуальной задачей является организация в России производства АЗТ и его аналогов, основанного на оригинальной отечественной технологии. Одной из ключевых стадий химического синтеза 3'-азидотимидина и его аналогов, таких как 3'-тетразол-2-ил-тимидин, является реакция каркасного субстрата - 5'-О-защищенного-2,3'-ангидротимидина с высокоазотистыми нуклеофилами - солями азотистоводородной кислоты, тетразолидами. Для создания конкурентноспособного производства субстанции АЗТ необходима оптимизация технологических режимов с целью повышения выхода, снижения содержания побочных продуктов, энергозатрат. Это возможно только на базе глубокого понимания механизма подобных реакций, факторов, определяющих реакционную способность и селективность ключевых химических процессов, приводящих к целевым продуктам.

Работа выполнена при поддержке Российского Фонда Фундаментальных Исследований (грант № 01-03-32531), Минобразования РФ (грант № Т02-09.3-3222) и Федеральной целевой программы государственной поддержки интеграции образования и фундаментальной науки «Интеграция» (грант № И0667).

Целью диссертационной работы является формулировка на основе кинетических исследований механизма азидирования 5'-0-бензоил-2,3'-ангидротимидина солями азотистоводородной кислоты. Оценка влияния различных факторов: природа азидирующего агента, растворителя, ионизирующих добавок на кинетические и термодинамические параметры процесса азидирования каркасного ангидронуклеозидного субстрата.

Научная новизна Экспериментально определены и сопоставлены между собой скорости реакции 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина с различными азидирующими системами. Квантово-химическим методом изучено электронное строение 5'-0-бензоил-2,3'-ангидротимидина. Кондуктометрическим методом исследовано состояние диметиламмоний азида в ДМФА и его смесях с 1,4-диоксаном при температурах, близких к температурам проведения изучаемой реакции. Установлены кинетические и термодинамические параметры азидирования 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина диметиламмоний азидом в ДМФА и в системе ДМФА/1,4-диоксан. Обнаружен рост скорости реакции при увеличении объема доли диоксиана в системе.



Выдвинута гипотеза механизма реакции, согласно которой лимитирующая стадия проходит через циклическое переходное состояние, образованное субстратом и нуклеофилом. В этом циклическом переходном состоянии синхронно протекают следующие процессы: атака азид аниона по углеводному кольцу, перенос протона от диметиламмониевого фрагмента к кислороду ангидросвязи и, как следствие, ее разрыв. Дана оценка влияния растворителя на скорость и механизм реакции азидирования 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимицина диметиламмоний азидом. Впервые установлены кинетические и термодинамические параметры реакции азидирования 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимицина азидом натрия в присутствии макроциклического полиэфира 18-краун-6. Обнаружено увеличение скорости при использовании системы азид натрия/18-краун-6. Выдвинута гипотеза механизма реакции, согласно которой на лимитирующей стадии происходит бимолекулярное взаимодействие 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимицина с азид-анионом, не осложненное циклическим переходным состоянием.

Практическая значимость Полученные в работе кинетические данные были представлены в ФГУП РНЦ «Прикладная химия» для поиска оптимальных условий проведения стадии азидирования 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимицина при помощи программно-аппаратного комплекса ReactOp. Полученные оптимизированные значения были использованы при разработке технической документации для проектирования опытно-промышленной установки ЗАО «Фармсинтез», введенной в эксплуатацию на площадке опытного завода ФГУП РНЦ «Прикладная химия». Акты внедрения результатов НИР приложены к материалам диссертационной работы.

Апробация Основные положения диссертации доложены и обсуждены на второй международной конференции молодых ученых «Актуальные тенденции в органическом синтезе на пороге новой эры» (С.-Петербург, 1999 г.); молодежной научной школе по органической химии (Екатеринбург, 2000 г.); международной научной конференции «ВИЧ/СПИД и родственные проблемы» (С.-Петербург, 2000 г.); XIX Всероссийской школе-симпозиуме молодых ученых по химической кинетике (Москва, 2001 г.); XIII симпозиуме «Современная химическая физика» (Туапсе, 2001 г.); 14-ой Международной конференции по органическому синтезу (IUPAC/ICOS-14) (Кристчарч, Новая Зеландия, 2002 г.).

Публикации По теме диссертации опубликованы 4 статьи и тезисы 8 докладов.

Объем и структура работы Диссертация состоит из введения, аналитического обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части и выводов. Работа изложена на 145 страницах машинописного текста, содержит 7 таблиц, 23 рисунка, 50 схем. Список литературы включает 211 ссылок.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1 Азидирование 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина как модель для исследования механизма реакций ангидротимидинов с нуклеофилами

АЗТ и другие - 3*-модифицированные нуклеозиды - сохраняют основные позиции в лекарственной терапии СПИДа. Одной из ключевых стадий в процессе получения 3'-модифицированных нуклеозидов является реакция каркасных ангидронуклеозидов с нуклеофилами различной природы. Информация о механизмах подобных реакций отсутствует, что существенно ограничивает возможности экспериментаторов, разрабатывающих методы направленного органического синтеза.

В настоящей работе сосредоточено внимание на количественном изучении и попытке интерпретации механизма азидирования 5'-О-защищенньк-2,3'-ангвдротимидинов (Схема 1). Такой выбор обусловлен следующим:

- 5'-О-защищенные-2,3'-ангидротимидины являются основными субстратами для получения 3'-модифицированных тимидинов;
- * стадия азидирования в апротонных диполярных растворителях является ключевой при получении АЗТ и его аналогов.

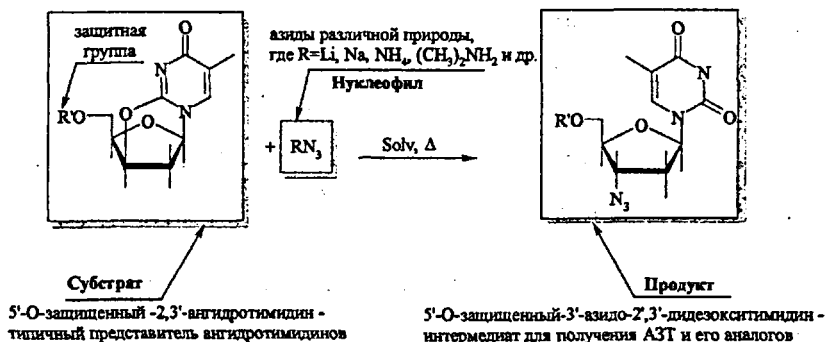


Схема 1

Необходимо отметить, что азидирование 5'-0-защищенного-2,3'-ангидротимидина следует отнести к реакциям нуклеофильного замещения/присоединения, в которых субстратом выступает каркасный ангидронуклеозид, а нуклеофилом - соли азотистоводородной кислоты.

Таким образом, этот процесс может служить удобной моделью для изучения широкого круга реакций ангидронуклеозидов с нуклеофилами.

2 Кинетика азидирования 5'-0-бензоил-2,3'-ангидротимидина различными азидирующими системами и сравнительный анализ скоростей реакций

В основу исследования механизма азидирования 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина положен кинетический метод. Кинетику реакций изучали спектрофотометрически. Предваритель-

но показано, что спектры исходного соединения 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина (I) и конечного продукта 5'-О-бензоил-3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина (II) различаются (Рис. 1).

Исследуемые реакции не осложнены побочными процессами термолитического разложения субстрата и продукта реакции. На примере реакции 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина с диметиламмоний азидом в ДМФА при 100°C показано (Рис. 2), что семейство спектральных кривых, полученных в ходе реакции в диапазоне длин волн 225-280 нм, имеет общую изобестическую точку ($\lambda=255\text{нм}$).

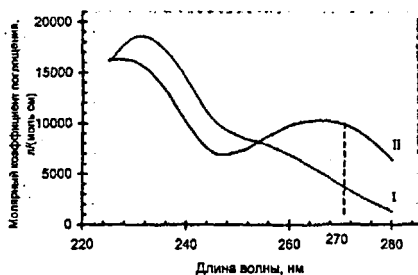


Рис. 1 УФ-спектры 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина (I) и 5'-О-бензоил-3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина (II) в этаноле

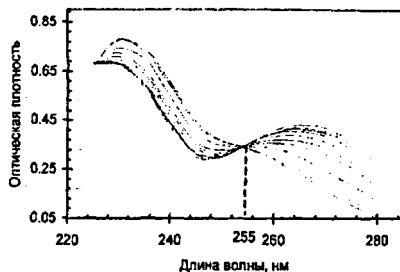


Рис. 2 Изменение спектральных кривых в ходе реакции 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина с диметиламмоний азидом в ДМФА при 100°C

Кинетику реакции изучали по накоплению 5'-О-бензоил-3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина (II) в условиях псевдопервого порядка по субстрату (I). Наблюдаемую константу скорости $k_{\text{набл}}$ определяли как угловой коэффициент полулогарифмической анаморфозы:

$$\ln(D_{\infty} - D_t) = k_{\text{набл}} \tau + \ln(D_{\infty} - D_0) \quad (1)$$

где D_0 и D_{∞} - оптические плотности 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина (I) и 5'-О-бензоил-3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина (II) при аналитической длине волны 270 нм, D_t - оптическая плотность в момент времени τ .

На первом этапе была оценена реакционная способность различных азидирующих систем. Для анализа отобраны следующие системы:

- $(\text{CH}_3)_2\text{NH}_2\text{N}_3$ в ДМФА — система используется в отечественной технологии получения АЗТ;
- $(\text{CH}_3)_2\text{NH}_2\text{N}_3$ в ДМФАЛ,4-диоксан (60:40) - эта система рассмотрена в патенте РФ*, где показано на эмпирическом уровне, что применение данной системы приводит к увеличению конверсии азидирования 5'-О-бензоил-2'-ангидротимидина;

* Пат. 2263775 Россия, 6 С 07Н19/073. Способ получения 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина / В.А. Островский, В.С. Поплавский и др. - № 93048356/04; Заявл. 23.06.1997; 7 с.

- $(\text{CH}_3)_2\text{NH}_2\text{N}_3$ в ДМФА/диглим (60:40) - диглим выбран как альтернатива диоксану, он близок по полярности, но значительно превышает диоксан по ионизирующей способности;
- LiN_3 в ДМФА - наряду с NaN_3 , наиболее часто используемая система при азидировании каркасных нуклеозидов;
- $\text{LiN}_3/15$ -краун-5 в ДМФА, $\text{NaN}_3/15$ -краун-5 в ДМФА, $\text{NaN}_3/18$ -краун-6 в ДМФА - примените макроциклических полиэфиров увеличивает растворимость неорганических азидов, а также позволяет генерировать практически «свободный» азид-анион.

В исследуемых реакциях варьировалась только азидирующая система, все прочие условия были, зафиксированы: температура 100°C , концентрация. 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина 0.0262 моль/л, концентрация азидов 0.262 моль/л.

Все исследуемые реакции подчиняются кинетическому уравнению первого (псевдопервого) порядка по субстрату (I), так как линейность полулогарифмических анаморфоз кинетических кривых сохраняется до конверсии 80-85%. Значения наблюдаемых констант исследуемых реакций приведены ниже:

Азидирующая система	$(\text{CH}_3)_2\text{NH}_2\text{N}_3^*$	$(\text{CH}_3)_2\text{NH}_2\text{N}_3$ ДМФА/1,4-диоксан (60:40)	$(\text{CH}_3)_2\text{NH}_2\text{N}_3$ ДМФА/диглим (60:40)	LiN_3^*	LiN_3^* 15-CR-5	NaN_3^* 15-CR-5	NaN_3^* 18-CR-6
$k_{\text{набл}} 10^5 \text{ c}^{-1}$	1.81±0.05	3.96±0.08	3.09±0.06	0.58±0.01	3.27±0.08	4.4±0.1	2.82±0.06
$k_{\text{отн}}$	1	2.2	1.7	0.3	1.8	2.4	1.5

* растворитель – ДМФА

Если принять за реперную точку $k_{\text{набл}}$ реакции 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина с диметиламмоний азидом в ДМФА, то действительно использование бинарной системы ДМФА/1,4-диоксан приводит к увеличению скорости процесса. В то же время замена диоксана на диглим наши надежды не оправдала: несмотря на более высокую ионизирующую способность этого растворителя, скорость реакции осталась практически такой же, как и в случае с диоксаном. Несмотря на широкое применение азидов лития в синтезе азидонуклеозидов, в частности, в английской (GLAXO-WELLMOM) технологии АЗТ и его аналогов, скорость азидирования этим реагентом оказалась в 3 раза меньше, чем диметиламмоний азидом (отечественный вариант) в тех же условиях. Отметим также плохую растворимость азидов лития в ДМФА. Очевидно, что использование азидов натрия дает не лучшие результаты. Применение макроциклических полиэфиров значительно улучшило растворимость неорганических азидов в апротонных растворителях. Однако хотя скорость реакции и увеличилась в сравнении с репером (диметиламмоний азидом) в 2-2,5 раза, а в сравнении с азидом лития в 5-7 раз, по нашему мнению, этого недостаточно. Использование подобных систем на примерах с другими реакциями нуклеофильного замещения/присоединения приводит к увеличению скорости в 10-100 раз.

С целью интерпретации этих наблюдений для более детального изучения мы выбрали следующие процессы:

- азидирование 5'-O-бензоил-2,3'-ангидротимидина диметиламмоний азидом в ДМФА и его смесях с 1,4-диоксаном;
- азидирование 5'-O-бензоил-2,3'-ангидротимидина азидом натрия в присутствии макроциклического полиэфира 18-краун-6..

3 Кинетика и механизм азидирования 5'-O-бензоил-2,3'-ангидротимидина диметиламмоний азидом в ДМФА и смеси ДМФА/1,4-диоксан

В настоящей работе исследована кинетика реакции 5'-O-бензоил-2,3'-ангидротимидина с диметиламмоний азидом в ДМФА при 95-125°C и в бинарной системе ДМФА/1,4-диоксан при варьировании соотношения растворителей от 0 до 50 об% диоксана в диапазоне температур 80-100°C. Реакции проводили в условиях псевдопервого порядка по субстрату (I). Концентрация последнего была 0.0262 моль/л, концентрация реагента варьировалась от 0.1 до 0.5 моль/л. При всех перечисленных выше условиях реакция описывается уравнением первого (псевдопервого) порядка. Линейность полулогарифмических анаморфоз уравнения (1) сохраняется до 80-85% конверсии.

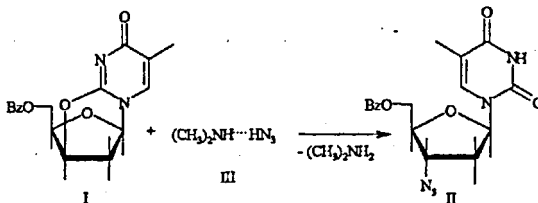


Схема 2

Предварительно методами квантовой химии оценено электронное строение субстрата и реагента, а также кондуктометрически - состояние диметиламмоний азиды в ДМФА и в системе ДМФА/1,4-диоксан в диапазоне температур 60-100°C.

3.1 Электронное строение 5'-O-бензоил-2,3'-ангидротимидина и диметиламмоний азиды

На рис. 3 приведены результаты квантово-химического анализа 5'-O-бензоил-2,3'-ангидротимидина, выполненного методом АМ1. Распределение электронных (σ^+ и π)-зарядов и порядок связей по Уайбергу W_{AB} в молекуле субстрата (I), порядок ангидросвязи $C^{3'}-O^2$ близок единице, а заряд углеродного атома $C^{3'}$ близок к нулю. Следовательно, ослабление и разрыв ангидросвязи, а также нуклеофильная атака по атому $C^{3'}$ азидной группы затруднены.

Согласно данным теоретических расчетов методами MNDO и MNDO/M, азидирующий агент как в газовой фазе, так и в среде ДМФА устойчив в виде комплекса с водородной связью (Рис. 4) с локализацией отрицательного заряда на атоме N^1 [Таблице 1]

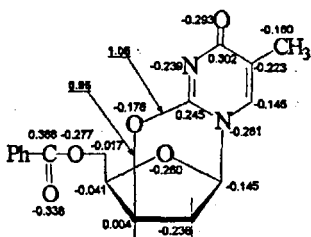


Рис. 3 Молекулярная диаграмма 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина

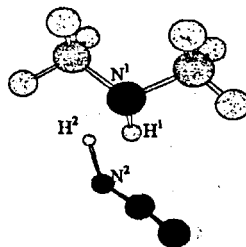


Рис. 4 Структура диметиламмоний азиды (III), рассчитанная методом MNDO/M

Таблица 1 Данные квантово-химического расчета диметиламмоний азиды (III)

Среда	Метод расчета	ΔH_f , кДж/моль	Длина связи, Å (W_{AB})*		Заряды атомов, а.е.			
			N^1-H^1	N^2-H^2	N^1	H^1	N^2	H^2
Газовая фаза	MNDO	287.31	6.82 (0)	1.03 (0.929)	-0.365	0.119	-0.290	0.126
	MNDO/M	276.88	2.50 (0.0017)	1.04 (0.918)	-0.368	0.114	-0.294	0.148
ДМФА	MNDO	251.10	6.89 (0)	1.01 (0.926)	-0.375	0.121	-0.325	0.141
	MNDO/M	250.19	2.50 (0.0018)	1.04 (0.915)	-0.379	0.122	-0.324	0.165

*Порядок связи по Уайбергу. **Длина и порядок связи N^1-H^1 во всех случаях составляют соответственно 1.01 Å и 0.953 ± 0.02 .

3.2 Электропроводность диметиламмоний азиды в ДМФА и смеси ДМФА/1,4-диоксан

Нами получены экспериментальные зависимости молярной электропроводности от концентрации диметиламмоний азиды в ДМФА и его смесях с 1,4-диоксаном, пример одной из них можно видеть на рис. 5. Вид этих зависимостей характерен для слабых электролитов в средах со средней и низкой полярностью. Как видно из рис. 5, область диссоциации (ассоциации) диметиламмоний азиды располагается в диапазоне очень низких концентраций, т.е. в условиях кинетического эксперимента реагент находится только в ассоциированном виде.

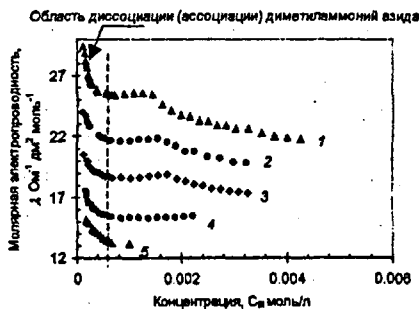


Рис. 5 Зависимость молярной электропроводности диметиламмоний азиды в системе ДМФА/1,4-диоксан (60:40) от концентрации при температуре, °С: 1-60; 2-70; 3-80; 4-90; 5-100.

3.3 Определение констант скорости азидирования 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина диметиламмоний азидом в ДМФА

Далее была исследована кинетика реакции 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина с диметиламмоний азидом в ДМФА. Значения констант скорости второго порядка были определены из угловых коэффициентов линейных зависимостей $k_{\text{взбл}} = f(C_{\text{III}})$ и приведены ниже:

Температура, °С	95	100	110	120	125
$k_{\text{II}} \cdot 10^3$, л/(моль·с)	3.1±0.2	6.9±0.4	18±1	38±2	109±5

• Значения констант скорости согласуются с прогнозом о низкой реакционной способности субстрата.

3.4. Определение констант скорости азидирования 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина диметиламмоний азидом в смеси ДМФА/1,4-диоксан при температуре 100°С

Как было отмечено в разделе 2, использование бинарной смеси растворителей ДМФА/1,4-диоксан приводит к увеличению скорости реакции. Нами изучена кинетика реакции 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина с диметиламмоний азидом в этой системе растворителей при фиксированной температуре 100°С. Значения констант скорости второго порядка рассчитаны из угловых коэффициентов линейных зависимостей $k_{\text{взбл}} = f(C_{\text{III}})$ и приведены в таблице 2.

Таблица 2 Значения констант скорости реакции 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина (I) с диметиламмоний азидом (III) в смеси ДМФА~1,4-диоксан при $T^{\circ}=100^{\circ}\text{C}$

Содержание диоксана, об %	Мольная доля диоксана	ϵ^*	$k_{\text{II}} \cdot 10^3$, л/(моль·с)	$k_{\text{отн}}$
0	0	32.7	6.9±0.3	1
10	0.091	29.6	8.4±0.4	1.21
20	0.184	26.2	10.1±0.5	1.46
30	0.279	22.6	12.4±0.6	1.80
40	0.376	19.2	15.2±0.7	2.20
50	0.475	15.6	17.9±0.9	2.60

* диэлектрическая проницаемость при 55°С.

Как видно из таблицы 2, прибавление малополярного растворителя диоксана действительно приводит к плавному увеличению скорости реакции ($k_{\text{отн}}$). Этот факт может служить показателем, что переходное состояние малополярно по сравнению с исходными реагентами.

3.5 Зависимость констант скорости от состава растворителя

Нами установлена линейная зависимость $\lg k_{\text{II}}$ от мольной доли 1,4-диоксана в смеси (рис. 6), такая зависимость может говорить о том, что влияние на скорость реакции обоих компонентов смеси однородно и осуществляется по одному и тому же механизму.

Для уточнения влияния растворителя на скорость и механизм реакции мы воспользовались зависимостью скорости реакции от функции Кирквуда $\lg k_{\text{II}} = f(\epsilon - 1)/(2\epsilon + 1)$.

Однако в рассматриваемом случае наблюдается отклонение зависимости $\lg k_{\text{II}} = f[(\epsilon - 1)/(2\epsilon + 1)]$ от прямой (рис. 7). При добавлении к ДМФА заметных количеств диоксана скорость процесса возрастает в меньшей степени (рис. 7, /), чем это могло происходить в случае

теоретической кирквудовской зависимости (Рис.7, 2). Возможно, такая картина связана с эффектами специфической сольватации.

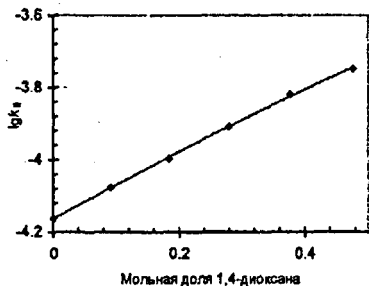


Рис.6 Зависимость скорости реакции 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина (I) с диметиламмоний азидом (III) в системе ДМФА/диоксан от мольной доли диоксана, 100°C

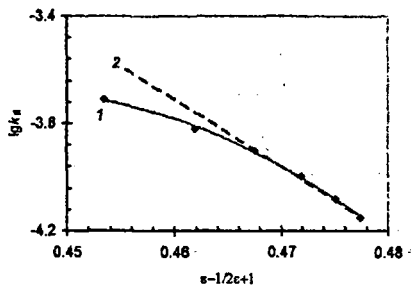


Рис.7 Зависимость скорости реакции 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина (I) с диметиламмоний азидом (III) в системе ДМФА/диоксан от функции Кирквуда: 1-эксперимент, 2- теоретическая зависимость.

3.6 Определение констант скорости азидирования 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина диметиламмоний азидом в смеси ДМФА/1,4-диоксан в диапазоне температур 80-100°C

Для уточнения влияния растворителя на механизм реакции, а также для определения активационных параметров нами установлены значения констант скорости второго порядка в диапазоне температур 80-100°C для трех смесей ДМФА/1,4-диоксан (содержание диоксана 30, 40, 50 об%). Значения этих констант определены из угловых коэффициентов линейной зависимости $k_{\text{экс}} = f(C_{\text{III}})$ и представлены ниже:

Содержание диоксана, об%	Константы скорости, $k_{\text{II}} 10^5$, л/(моль·с) при температуре, °C				
	80	85	90	95	100
30	2.0±0.1	2.7±0.1	5.6±0.2	7.5±0.4	12.4±0.6
40	2.7±0.1	3.9±0.2	6.0±0.2	9.9±0.5	15.2±0.7
50	4.0±0.2	5.4±0.3	9.0±0.5	11.4±0.5	17.9±0.9

3.7 Активационные параметры азидирования 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина диметиламмоний азидом в ДМФА и его смесях с 1,4-диоксаном

Из угловых коэффициентов и свободного члена температурных зависимостей констант скорости азидирования согласно теории Аррениуса-Эйринга рассчитаны значения термодинамических параметров активации процесса:

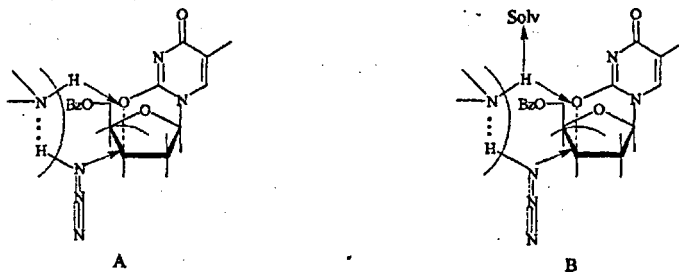
Содержание диоксана, об%	$\ln k_{\text{II}} = \ln A - E_a/R \cdot 1/T$	r	s	n	$\Delta H^{\ddagger}_{298}$, кДж/моль	$\Delta S^{\ddagger}_{298}$, Дж/(моль·К)
0	$\ln k_{\text{II}} = 2.6 - 15.8 \cdot 10^3 / T$	0.99	0.09	5	126	33
30	$\ln k_{\text{II}} = 23.9 - 12.3 \cdot 10^3 / T$	0.99	0.09	5	100	-47
40	$\ln k_{\text{II}} = 19.1 - 10.5 \cdot 10^3 / T$	0.99	0.08	5	85	-83
50	$\ln k_{\text{II}} = 17.4 - 9.7 \cdot 10^3 / T$	0.99	0.08	5	79	-101

Как видно, при добавлении диоксана происходит уменьшение как энтропии, так и энтальпии активации.

3.7 Гипотеза механизма реакции. Оценка влияния изменения состава на скорость механизма азидирования 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина с диметиламмоний азидом

На основании полученных данных, а также анализа литературы нами выдвинута гипотеза механизма реакции 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина с диметиламмоний азидом (Схема 2), согласно которой на лимитирующей стадии образуется циклический комплекс А, при этом происходит синхронно: протонирование по атому O^2 , нуклеофильное азидирование по атому C^3 , разрывление связи C^3-O^2 и отщепление диметиламина. Такая молекулярная организация реагентов в переходном состоянии облегчает разрыв достаточно прочной ангидросвязи.

Влияние растворителя проявляется следующим образом: снижение полярности среды за счет добавления малополярного диоксана приводит к стабилизации переходного состояния, которое по определению малополярно по отношению к исходным реагентам, это проявляется в уменьшении энтальпии и энтропии активации и росте скорости реакции. Однако нуклеофильные растворители могут вступать в конкуренцию с атомом кислорода ангидросвязи (комплекс В). Это дестабилизирует переходное состояние, и скорость реакции оказывается не столь большой, как это можно было бы ожидать в случае беспорядочного движения молекул растворителя (Рис. 7, 1). Этим же можно объяснить и нашу «неудачу» при использовании бинарной смеси ДМФА/диглим (Раздел 2).



Кинетические методы не позволяют нам детализировать процессы, но мы можем предположить, что на лимитирующей стадии происходит образование лактама С, затем следует его изомеризация (D) и разворот гетероциклического основания вокруг гликозидной связи, который и приводит к образованию конечного продукта (III) (Схема 3).

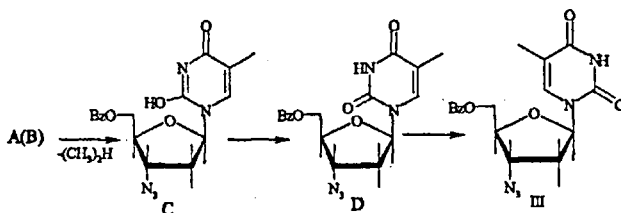
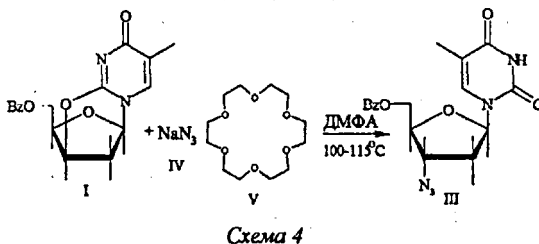


Схема 3

4 Кипетика и механизм азидирования 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина азидом натрия в присутствии макроциклического полиэфир 18-краун-6

Макроциклические полиэфир часто применяют для улучшения растворения неорганических солей в органических растворителях, а также для ускорения реакций нуклеофильного замещения за счет диссоциации этих солей и генерирования «свободных» анионов. Нами изучена кинетика реакции 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина (I) с азидом натрия (IV) в присутствии макроциклического полиэфир 18-краун-6 (CR, V) в ДМФА при 100-115°C.



Реакции проводили в условиях псевдопервого порядка по субстрату (I). Концентрация последнего была 0.0262 моль/л, концентрация азид натрия варьировалась от 0.1 до 0.4 моль/л (краун-эфир добавлялся в эквимольном количестве к азиду). При всех перечисленных выше условиях реакция описывается уравнением первого (псевдопервого) порядка. Линейность полулогарифмических анаморфоз уравнения (1) сохраняется до 80-85% конверсии.

4.1 Концентрационные зависимости наблюдаемых констант

Как известно, соли натрия в присутствии 18-краун-6 образуют комплекс типа 1:1, который представляет собой краун-разделенную ионную пару.

На рис. 8 приведена оптимизированная модель для комплекса 18-краун-6 с азидом натрия в газовой фазе, полученная в результате квантово-химического расчета (*ab initio* метод RHF с базисным набором STO 3-21G). Как следует из этих данных, расстояние между катионом натрия и головным атомом азота азидной группы в газовой фазе составляет 2.03Å.

Исходя из суммы радиуса Na^+ (0.95Å) и вандервальсовской радиуса атома азота (1.5Å), ионная пара азид натрия в газовой фазе, скорее всего, принадлежит к контактному типу. Однако при переходе от газовой фазы к раствору картина, скорее всего, изменяется, т.к. на степень ионизации большое влияние оказывает растворитель. Тесная (контактная) ионная пара превращается в полярном растворителе, обладающем высокой ионизирующей и сольватирующей способностью (к которым относится ДМФА), в более реакционноспособную сольватно-разделенную ионную пару.



Рис. 8 Оптимизированная модель для комплекса 18-краун-6 с азидом натрия

Процесс комплексообразования азида натрия и 18-краун-6 (VI) можно представить следующим уравнением (Схема 5):

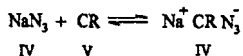


Схема 5

В условиях проведения исследуемой реакции (ДМФА, T=100-115°C), это равновесие практически полностью будет сдвинуто вправо, т.е. в азидирование 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина будет участвовать только одна ионная форма.

Для определения констант скорости второго порядка нами построены концентрационные зависимости $k_{\text{набл}} = f(C_{\text{VI}})$ (Рис. 9).

Все зависимости носят линейный характер, однако при 100°C зависимость $k_{\text{набл}} = f(C_{\text{VI}})$ при экстраполяции к нулевой концентрации азидирующего агента отсекает значимый отрезок на оси ординат (Рис. 9). Такие зависимости типичны для реакции, идущих по двум параллельным путям: с участием и без участия катализатора. Мы предположили, что при этой температуре в реакцию вступает как комплекс (VI), так и сам исходный азид.

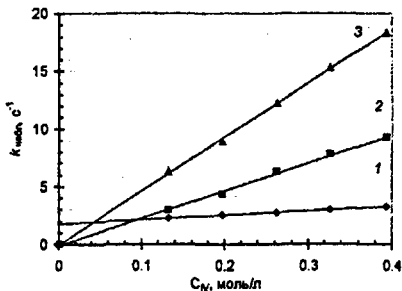
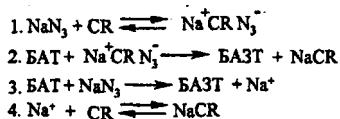


Рис. 9 Концентрационные зависимости наблюдаемых констант скорости от начальной концентрации азидирующего агента при температурах, °С: 1-100; 2-110; 3-115.

Для подтверждения этой гипотезы экспериментальные данные были обработаны с помощью программы анализа кинетических данных ReactOp. Была предложена следующая кинетическая модель реакции:



где 1 - это равновесный процесс образования комплекса $\text{NaN}_3/18\text{-краун-6}$; 2 - взаимодействие 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина (БАТ) и комплекса $\text{NaN}_3/18\text{-краун-6}$ с получением 5'-О-бензоил-3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина (БАЗТ); 3 - взаимодействие 5'-О-бензоил-2,3'-

ангидротимидина (БАТ) и комплекса NaN_3 с 5'-0-бензоил-3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина (БАЗТ); 4 - комплексообразование между свободным натрием и краун-эфиром.

В результате решения обратной кинетической задачи удалось найти адекватное совместное описание данных. Согласно этому описанию равновесие стадии 1 практически полностью сдвинуто вправо для всех трех температур (100, 110 и 115°C), т.е. наше предположение о протекании реакции по двум параллельным путям оказалось неверным. Однако если модельные расчетные кривые для серий с температурами ПО и 115°C хорошо описывают экспериментальные кинетические данные, то выборка для 100°C из этого описания полностью выпадает. По этой причине данная выборка была исключена из дальнейшего рассмотрения/

Константы скорости второго порядка k_{II} , определенные из концентрационных зависимостей (рис.9) и с помощью программы ReactOP для температур 110 и 115°C, представлены ниже:

Температура, °C	110	115
$k_{II} \cdot 10^5$, л/(моль·с)	23.9	46.9
$k_{II} \cdot 10^5$, л/(моль·с), ReactOp	23.1	47.1

4.3 Активационные параметры азидирования 5'-О-бензоил-2Е'-ангидротимидина азидом натрия в присутствии 18-краун-би гипотеза механизма реакции

Так как из экспериментальных данных удалось получить только две константы скорости k_{II} , которым можно присвоить статус квазиистинных, при температурах 110 и 115°C была определена только энергия активации E_a по формуле:

$$E_a = \frac{R \ln(k_2/k_1)}{\frac{1}{T_1} - \frac{1}{T_2}} \quad (2)$$

где E_a энергия активации, Дж/моль; R газовая постоянная, k_1 и k_2 константы скорости второго порядка, л/моль·с, при температурах T_1 и T_2 , К.

Значение энергии активации E_a вычисленное по уравнению (2) составляет 167 кДж/моль, с помощью программы ReactOp - 176 кДж/моль. Следует отметить необычно высокое значение энергии активации, и как следствие энтальпии активации, которое скорее характерно для мономолекулярных процессов, протекающих с гетеролитическим разрывом связи. Полученное значение энергии активации, а также строение реагентов позволяют сделать предположение о том, что в данном случае лимитирующая стадия не осложнена циклическим переходным состоянием, - как в случае с диметиламмоний азидом и протекает по согласованному механизму: атака азидом по атому $\text{C}^{3'}$ фуранозного цикла и разрыв ангидросвязи (Схема б). Учитывая высокую нуклеофильную реакционную способность краун-разделенной ионной пары, можно предполагать, что основные энергетические затраты идут не на взаимную ориентацию реагентов, а на разрыв достаточно прочной ангидросвязи. Именно этим можно объяснить anomalно высокое значение энергии активации.

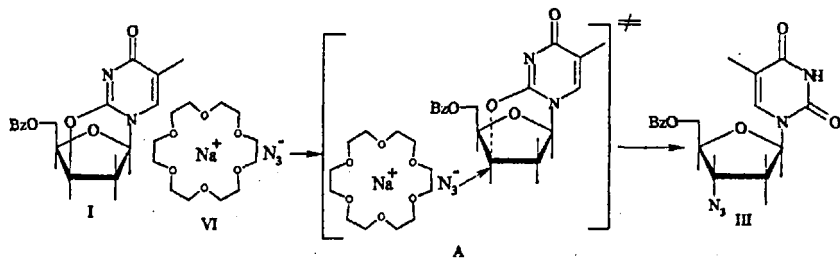


Схема 6

5 Заключение

В заключение необходимо отметить: реакция 5'-O-бензоил-2,3'-ангадротимидина с солями азотистоводородной кислоты протекает медленно и зависит от многих условий. Повышенные нуклеофильности реагента не дает существенного выигрыша в скорости. Для данной реакции важны не только реакционная способность нуклеофила, но и факторы, определяющие разрыв ангидросвязи, и протонирование по атому кислорода. По-видимому, для реакции с подобным субстратом очень важную роль играет молекулярная организация реагентов за счет донорно-акцепторных и водородных связей в механизме элементарного акта. Примером такой организации может служить циклическое переходное состояниелимитирующей стадии реакции 5'-O-бензоил-2,3'-ангидротимидина с диметиламмоний азидом.

Возможно также, что для подобного типа реакций эффективным будет бифункциональный катализ, где в качестве катализатора могут выступать соединения, содержащие подвижный атом водорода (спирты, органические кислоты и амины).

6 Некоторые практические следствия

Как уже упоминалось, при проведении стадии азидирования при синтезе АЗТ в производственных условия исключительно важно иметь кинетические параметры, исходя из которых можно найти оптимальные условия для проведения процесса азидирования в промышленных условиях. Кинетические данные, полученные в ходе настоящей работы, были переданы в ФГУП РНЦ «Прикладная химия», где были использованы для поиска оптимальных условий стадии азидирования 5'-O-бензоил-2,3'-анпадротимидина' при помощи программно-аппаратного комплекса ReactOp. Полученные оптимизированные значения были использованы при разработке технической документации для проектирования опытно-промышленной установки синтеза АЗТ ЗАО «Фармсинтез» введенной в эксплуатацию на площадке опытного завода ФГУП РНЦ «Прикладная химия».

ВЫВОДЫ

- 1 Экспериментально определены и сопоставлены между собой наблюдаемые константы скорости реакции 5'-0-бензоил-2,3'-ангидротимицина с различными азидирующими системами при 100°C. Выявлено следующее:
 - в случае азидирования диметиламмоний азидом использование в качестве растворителя вместо ДМФА бинарных смесей ДМФА/1,4-диоксан (60:40) и ДМФА/диглим (60:40) увеличивает скорость реакции;
 - при переходе от диметиламмоний азида к азиду лития скорость реакции падает.
 - Использование макроциклических полиэфиров улучшает растворимость неорганических азидов (LiN_3 , Na_3N) и увеличивает скорость реакции.
- 2 По данным полуэмпирических квантово-химических расчетов (AM1) на атоме углерода в положении 3' 5'-O-бензоил-2,3'-ангидротимицина практически отсутствует положительный заряд, порядок связи C^3-O^2 этого субстрата близок к единице. Это объясняет низкую реакционную способность подобных субстратов по отношению к нуклеофильным реагентам.
- 3 По данным полуэмпирических квантово-химических расчетов (MNDO и MNDO/M) диметиламмоний азид стабилен в газовой фазе и в среде ДМФА в виде комплекса с водородной связью. В растворах ДМФА и его смесях с 1,4-диоксаном по данным кондуктометрических исследований в условиях реакции реагент существует в ассоциированном виде.
- 4 Изучена кинетика реакции 5'-0-бензоил-2,3'-ангидротимицина с диметиламмоний азидом в ДМФА при $T=95-100^\circ\text{C}$ и его смесях с 1,4-диоксаном (до 50 об.% диоксана) при $T=80-100^\circ\text{C}$. При увеличении объемной доли диоксана в системе плавно растет скорость реакции. Выдвинута гипотеза механизма реакции, согласно которой лимитирующая стадия проходит через циклическое переходное состояние, образованное субстратом и реагентом реакции. В этом циклическом переходном состоянии синхронно протекают следующие процессы: атака азид-аниона по углеводному кольцу, перенос протона от диметиламмониевого фрагмента к кислороду ангидросвязи и, как следствие, ее разрыв. Неоднозначное влияние растворителя на скорость и механизм реакции связано с эффектами специфической сольватации.
- 5 Изучена кинетика реакции 5'-0-бензоил-2,3'-ангидротимицина с азидом натрия в присутствии макроциклического полиэфира 18-краун-6 в ДМФА при $T=100-115^\circ\text{C}$. Обнаружена необычно высокая энергия активации для бимолекулярных реакций. На основании полученных данных выдвинута гипотеза механизма реакции, согласно которой на лимитирующей стадии происходит бимолекулярное взаимодействие 5'-0-бензоил-23'-

аншдротимидина с азид-анионом, не осложненное циклическим переходным состоянием.

- 6 На основании полученных в ходе работы данных выдвинуто предположение, что для азидирования 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина важную роль играет не столько реакционная способность азидирующего агента, сколько молекулярная организация реагентов за счет донорно-акцепторных и водородных связей в механизме элементарного акта реакции.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях

1. *Корчевская Е.В., Малин А.Л., Островский В.А., Щербинин М.Б.* Взаимодействие 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина с диметиламмоний азидом в системе ДМФАЛ,4-диоксан // Тез. докл. Второй международной конференции молодых ученых «Актуальные тенденции в органическом синтезе на пороге новой эры», 28-30 июля, 1999 г. -СПетербург. -1999. -С. 170.

2. *Корчевская Е.В., Малин А.А., Щербинин М.Б., Островский В.А.* 2,3'-Ангидротимидин как ключевой субстрат в синтезе 3'-модифицированных нуклеозидов // Тез. докл. Международной научной конференции «Органический синтез и комбинаторная химия», 4-7 марта, 1999 г.- Москва.-1999. -П-84.

3. *Труханович М.З., Корчевская КВ., Малин А.А., Островский В.А.* Смесевые растворители в синтезе 3'-азидо-2',3'-дидезокситимидина // Тез. докл. Международной научной конференции «ВИЧ/СПИД и родственные проблемы», 19-24 мая, 2000. -С.-Петербург. -2000. -С.69-70.

4. *Корчевская Е.В., Малин А.А., Щербинин М.Б., Островский В.А.* Механизм реакции 5'-0-бензоил-2,3'-ангидротимидина с нуклеофилами II. Кинетика азидирования диметиламмоний азидом в системе ДМФА-1,4-диоксан //Журн. Орг. Хим.- 2000.-Т.36, вып.9.-С.1407-1410.

5. *Малин А.Л., Корчевская Е.В., Щербинин М.Б.* Кинетика и механизм тетразолирования и азидирования 5'-0-бензоил-2,3'-ангидротимидина // Тез. докл. 1⁰⁸ Всероссийской конференции по химии гетероциклов памяти А.Н. Коста, 19-23 сентября, 2000 г.- Суздаль. -2000.-С.268.

6. *Корчевская Е.В., Малин А.Л., Щербинин М.Б., Островский В.А.* Кинетика азидирования 5'-0-бензоил-2,3'-ангидротимидина *Natv* в присутствии 18-краун-6 // Тез. Докл. XIX Всероссийской школы-симпозиума молодых ученых по химической кинетике, 12-16 февраля, 2001 г.- Москва. -2001. -С.60.

7. *Малин А.Л., Корчевская Е.В., Щербинин М.Б., Корсунский Б.Л., Островский В.А.* Физико-химические аспекты нуклеозидного синтеза на примере реакции 5'-0-бензоил-2,3'-ангидротимидина с нуклеофилами // Тез. докл. XIII симпозиума «Современная химическая физика», 25 сентября-6 октября, 2001 г.- Туапсе, -2001 -С. 188.

8. *Малин А.А., Корчевская КВ., Щербинин МБ., Островский В.А.* Механизм реакции 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимицина с нуклеофилами III. Кинетика взаимодействия с триэтиламмоний тетразолидом в ДМФА // Журн. Орг. Хим.- 2001.-Т.37, вып.12.-С.1848-1851,

9. *Неделко В.В., Корчевская Е.В., Малин А.А.* Кинетика термораспада 3'-азидотимицина (АЗТ) // Тез. докл. XX Всероссийской школы-симпозиума молодых ученых по химической кинетике, 11-15 марта, 2002г.- Москва. -2002 -С.68.

10. *Корчевская Е.В., Островский Ю.В., Малин А.А., Труханович М.З., Щербинин МБ., Островский В.А.* Механизм реакции 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимицина с нуклеофилами IV. Кинетика и термодинамика азидирования диметиламмоний азидом в системе ДМФА-1,4-диоксан//Журн. Орг. Хим.- 2002.-Т.38, вып.5.-С.735-737.

W.Korchevskaya E.V., Malin A.A., Shcherbinin M.B., Steblaynko A.Yu., Endo T., Ostrovskii V.A. Kinetics and Mechanism of Formation of 5'-protected-3'-azidothimidme // 14th International Conference on Organic Synthesis (IUPAC/ICOS-14), 14-18 Jule, 2002.- Christchurch, New Zealand. - 2002. - P. 223.

12. *Неделко В.В., Корсунский Б.Л., Чуканов Н.В., Ларикова Т.С., Корчевская Е.В., Малин А.Л., Щербинин МБ., Островский В.А.* Термическое разложение 3'-азидотимицина// Журн. Орг. Хим.- 2003.-Т.39, вып.5.-С.744-747.

№ - 5278