



УДК 547.963.3

СОЕДИНЕНИЯ, ПОДОБНЫЕ АЦИКЛОВИРУ

I. СИНТЕЗ «ПОЛНЫХ» АЦИКЛИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ НУКЛЕОЗИДОВ

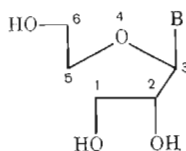
*Кочеткова С. В., Цилевич Т. Л., Смирнов И. П.,
Щавелева И. Л., Хорлин А. А., Готтмах В. П.,
Флорентьев В. Л.*

Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

Конденсацией триметилсилильных производных тимина, цитозина, аденина и гуанина с 1,4,5,6-тетраацетокси-3-оксагексаном в присутствии четыреххлористого олова или триметилсилилтрифлата с последующим аммонолизом получены 1-(1,2,6-тригидрокси-4-оксагекс-3-ил)тимин, 1-(1,2,6-тригидрокси-4-оксагекс-3-ил)цитозин, 9-(1,2,6-тригидрокси-4-оксагекс-3-ил)аденин, 3-(1,2,6-тригидрокси-4-оксагекс-3-ил)аденин и 9-(1,2,6-тригидрокси-4-оксагекс-3-ил)гуанин. Строение полученных соединений подтверждено спектрами УФ и ПМР.

Поиск химических препаратов, проявляющих противовирусную активность и, в частности, подавляющих репродукцию ретровирусов, является важной и актуальной задачей. Известно, что ряд аналогов природных нуклеозидов, в том числе и ациклические нуклеозиды, проявляют высокую антивирусную активность [1].

Настоящая работа посвящена синтезу «полных» ациклических аналогов нуклеозидов, содержащих все функциональные группы рибозы, оксиалкильный заместитель которых имитирует разорванный по С3'—С4' связи фуранозный цикл:



(Ia-d)

а: В = Thy-1, б: В = Cyt-1, в: В = Ade-9, г: В = Ade-3, д: В = Gua-9.

В качестве алкилирующего агента был использован 1,4,5,6-тетраацетокси-3-оксагексан (II), который был получен в несколько стадий из диэтилацетала акролеина по описанному нами ранее методу [2]. Аналоги нуклеозидов (Ia—д) синтезировали конденсацией алкилирующего агента (II) с триметилсилильными производными нуклеиновых оснований. Реакцию катализировали четыреххлористым оловом или триметилсилилтрифлатом. При синтезе производных тимина (Ia) и цитозина (Iб) использовали SnCl_4 . Реакцию проводили в ацетонитриле при 28—30° С, эквимолярном соотношении реагентов и 20% избытке катализатора. Промежуточно образующиеся ацетилированные аналоги не выделяли, а сразу дезацетилировали и после хроматографии на силикагеле получали незащищенные аналоги (Ia) и (Iб) с выходом ~70%.

Производные пуриновых оснований получали по разработанному нами методу [3], позволяющему использовать в конденсации триметилсилильные производные не защищенных по аминогруппе аденина и гуанина. В случае аденина реакция в присутствии триметилсилилтрифлата в ацетонитриле при 35° С приводила к образованию практически только 3-изомера. 9-Замещенные производные аденина и гуанина получали, когда в

Синтез, температуры плавления и спектры УФ ациклических аналогов нуклеозидов

Соединение	Элюирующая концентрация этанола, %	Выход, %	Т. пл., °С	УФ-спектр: λ_{max} , нм (ϵ)		
				pH 7	pH 13	pH 1
(Ia)	12–20	67	134–136	256,6 (9300)	265,5 (6900)	265,5 (9100)
(Iб)	51–70	66	155–158	269,5 (8100)	269 (8900)	278 (12 200)
(Iв)	35–54	71	174–177	259 (13 700)	259 (13 600)	257 (13 700)
(Iг)	49–70	55	135–138	268 (9000)	268 (9300)	271 (13 700)
(Iд)	47–70	84	310 (разл.)	251 (12 900)	264 (10 700)	255 (11 800)

Таблица 2

Спектры ПМР (в DMSO- d_6) ациклических аналогов нуклеозидов

Соединение	Химический сдвиг, м.д. (КССВ, Гц)						Другие сигналы * (с)
	Н2 или Н6	Н8 или Н5	Н3' (д)	2'-ОН (д)	1'-ОН (т)	6'-ОН (т)	
(Ia)	7,44 с 7,42 с	— —	5,52 (4) 5,55 (7)	4,59 (5)	4,96 (5)	4,57 (6)	1,79 (5-CH ₃) 10,86 (Н3)
(Iб)	7,58 д (8) 7,50 д (8)	5,77 д (8) 5,85 д (8)	5,59 (4) 5,64 (7)	4,88 (5)	4,57 (5)	4,43 (5)	
(Iв)	8,15 с 8,17 с	8,09 с 8,09 с	5,75 (4) 5,61 (7)	5,21 (5) 5,05 (5)	4,57 (5)	4,23 (5)	7,14 (6-NH ₂) 7,12 (6-NH ₂)
(Iг)	8,29 с 8,22 с	8,15 с 8,16 с	5,68 (4) 5,53 (7)	5,16 (6) 5,13 (6)	4,71 (6)	4,52 (6)	6,89 (6-NH ₂) 6,74 (6-NH ₂)
(Iд)	— —	7,74 с 7,76 с	5,52 (4) 5,39 (7)	5,13 (6) 5,07 (6)	4,65 (6)	4,56 (6)	6,38 (2-NH ₂) 10,45 (Н1)

* Сигналы 1'-CH₂, 2'-CH, 5'-CH₂ и 6'-CH₂ проявляются в виде сложного мультиплета при 3–4 м.д.

качестве катализатора применяли эквимолярную смесь трифторметансульфо-кислоты и триметилхлорсилана, которую добавляли к полностью силилированным основаниям без предварительного удаления из реакционной среды гексаметилдисилазана (к смеси добавляли равный по отношению к гексаметилдисилазану объем ацетонитрила). Реакцию проводили при кипении, раствор алкилирующего агента в ацетонитриле добавляли по каплям к реакционной массе в течение 2–3 ч. Использовали избыток алкилирующего агента и катализатора по отношению к нуклеиновому основанию, причем для аденина он был несколько выше (3 эквивалента на 1 эквивалент основания), чем для гуанина (2,5 эквивалента).

В индивидуальном состоянии ациклические аналоги рибонуклеозидов получали аммонолизом промежуточно образующихся ацетильных производных с последующей хроматографией на силикагеле. Выходы и температуры плавления полученных соединений приведены в табл. 1. Строение ациклических аналогов рибонуклеозидов подтверждали с помощью УФ- и ПМР-спектров (табл. 1 и 2).

ПМР-спектры позволяют однозначно определить строение оксиалкильного заместителя. Особенно характерны сигналы оксигрупп в спектрах, снятых с DMSO- d_6 . Эти сигналы легко идентифицируются, поскольку они исчезают при добавлении к образцу D₂O. Наличие трех сигналов оксигрупп в спектрах ПМР изученных соединений (двух триплетов и одного дублета) указывает на присутствие в молекуле двух первичных и одного вторичного гидроксильных.

Соединения (Ia—д) получали в виде смеси рацемических диастереомеров в соотношении, близком 1 : 1. В спектрах ПМР наблюдали два набора сигналов, относящихся к двум диастереомерам. Из данных спектров видно, что КССВ $J_{2'3'}$ для двух стереоизомеров сильно различаются (7 и 4 Гц). Интересно отметить, что при кристаллизации полученных соединений из смеси двух диастереомеров выкристаллизовывается практически чистый (свободный от примеси второго диастереомера) стереоизомер, которому соответствует КССВ $J_{2'3'} = 7$ Гц. В маточнике остается смесь, обогащенная вторым диастереомером с КССВ $J_{2'3'} = 4$ Гц. Величина КССВ не изменяется при переходе от DMSO к D₂O. Вероятно, относительная стабильность ротамеров не определяется образованием внутримолекулярных водородных связей.

Место присоединения оксиалкильного заместителя к нуклеиновому основанию определяли по данным спектров УФ (табл. 1).

Дополнительную информацию позволяют получить спектры ПМР (табл. 2). Сигналы НЗ' оксиалкильного заместителя и экзоциклической аминогруппы аденина для 3-изомера лежат в более сильном поле чем для 9-изомера. Кроме того, очень характерной является разность между химическими сдвигами ядерных протонов и химическими сдвигами сигнала от экзоциклической аминогруппы. Для 9-изомера эта разность составляет 1 м.д., а для 3-производного — больше 1,5 м.д. У производных гуанина сигнал Н8 9-изомера лежит при 7,6—7,9 м.д., в то время как в случае 7-изомера — при 8,10—8,13 м.д. [4].

Экспериментальная часть

Спектры ПМР снимали на приборе XL-100 (Varian, США), УФ-спектры записывали на спектрофотометре Ultrospec (LKB, Швеция). ТСХ проводили на пластинках Silufol UV₂₅₄ (ЧССР) и Kieselgel 60F₂₅₄ (Merck, ФРГ), хроматограммы проявляли смесью хлороформ — этанол (4 : 1) и изопропанол — аммиак — вода (7 : 2 : 1). Препаративную хроматографию проводили на колонках с силикагелем L 40/100 (ЧССР) (100 мл на реакционную смесь, полученную из 5 ммоль нуклеинового основания). Элюировали смесью хлороформ — этанол.

Элементный анализ полученных соединений отличался от теоретически рассчитанного не более чем на 0,3%.

Алкилирующий агент — 1,4,5,6-тетраацетокси-3-оксагексан (II) получали по описанному ранее методу [2].

1-(1,2,6-Тригидрокси-4-оксагекс-3-ил)тимин (Ia). К 0,63 г (5 ммоль) тимина добавляли 5 мл гексаметиладисилазана, 50 мг сульфата аммония, смесь кипятили 10 ч, тщательно упаривали в вакууме и остаток растворяли в 10 мл абс. ацетонитрила. К полученному раствору добавляли 1,6 г (1,3 мл, 5 ммоль) алкилирующего агента (II) и 1,55 г (0,7 мл, 6 ммоль) SnCl₄. Смесь оставляли при 30° С на 48 ч, выливали в 100 мл 20% раствора KНСО₃, экстрагировали хлороформом (3 × 50 мл) и хлороформные экстракты сушили Na₂SO₄. Растворитель упаривали, остаток растворяли в 35 мл полунасыщенного при 0° С метанольного аммиака (5 мл на 1 ммоль удаляемой группы промежуточно образующегося ацетата в расчете на его количественный выход) и оставляли при 20° С на 24 ч. Растворитель упаривали досуха, остаток растворяли в 50 мл этанола, добавляли 20 мл силикагеля и упаривали досуха. Сухой остаток наносили на колонку с силикагелем (80 мл). Элюировали сначала хлороформом (250 мл), а затем смесью этанол — хлороформ (линейный градиент от 0 до 20% этанола, общий объем 1 л, элюирующая концентрация этанола приведена в табл. 1). Фракции, содержащие продукт, объединяли, растворитель упаривали в вакууме и остаток кристаллизовали из эфира. Выход, УФ-спектр и т. пл. приведены в табл. 1, ПМР-спектр — в табл. 2.

1-(1,2,6-Тригидрокси-4-оксагекс-3-ил)цитозин (Iб). Силилирование, конденсацию и обработку реакционной смеси проводили по методу, аналогичному методу получения (Ia). Хроматографировали на колонке с силикагелем. Элюировали сначала 20% этанолом в хлороформе, затем смесью хлороформ — этанол (линейный градиент от 20 до 70% этанола, общий объем 1 л, элюирующая концентрация этанола приведена в табл. 1). Фракции, содержащие продукт, объединяли, растворитель упаривали и остаток кристаллизовали из этанола. Выход, т. пл. и спектр УФ приведены в табл. 1, спектр ПМР — в табл. 2.

9-(1,2,6-Тригидрокси-4-оксагекс-3-ил)аденин (Iв). К 0,675 г (5 ммоль) аденина добавляли 10 мл гексаметиладисилазана, 100 мг (NH₄)₂SO₄ и кипятили 20 ч. К полученному раствору добавляли 5 мл ацетонитрила, 1,27 мл (10 ммоль) триметилхлорсилана, 0,88 мл (10 ммоль) трифторметансульфокислоты. Смесь нагревали до кипения и добавляли по каплям в течение 2 ч раствор алкилирующего агента (II) (3,9 мл, 15 ммоль) в 10 мл ацетонитрила. После окончания добавления смесь кипятили еще 2 ч и оставляли на 16 ч при 20° С. Добавляли 1 мл триэтиламина и выливали в 100 мл 20% раствора

KHSO_3 . Экстрагировали хлороформом (3×50 мл) и далее обрабатывали аналогично методу, приведенному выше для соединения (Ia). Элюировали смесью хлороформ — этанол (линейный градиент от 10 до 60% этанола, общий объем 1 л, элюирующая концентрация этанола приведена в табл. 1). Перекристаллизовывали из этанола. Выход, спектр УФ и т. пл. приведены в табл. 1, спектр ПМР — в табл. 2.

3-(1,2,6-Тригидрокси-4-оксагекс-3-ил)аденин (Iг). Силилировали 0,675 г (5 ммоль) аденина как описано выше. Реакционную смесь тщательно упаривали в вакууме. Остаток растворяли в 10 мл ацетонитрила, добавляли 1,6 г (1,3 мл, 5 ммоль) алкилирующего агента (II), 1,4 мл (6 ммоль) триметилсилилтрифлата и оставляли на 48 ч при 40°C . Дальнейшее выделение проводили по методу, аналогичному приведенному выше для соединения (Ia). Элюировали смесью хлороформ — этанол (линейный градиент от 10 до 70% этанола, общий объем 1 л, элюирующая концентрация этанола — в табл. 1). Перекристаллизовывали из этанола. Выход УФ-спектр и т. пл. приведены в табл. 1, спектр ПМР — в табл. 2.

9-(1,2,6-Тригидрокси-4-оксагекс-3-ил)гуанин (Iд). Силилировали 0,756 г (5 ммоль) гуанина как описано выше для аденина, но кипятили 25 ч. К полученному раствору добавляли 5 мл ацетонитрила, 1,27 мл (10 ммоль) триметилхлорсилана и 0,88 мл (10 ммоль) трифторметансульфокислоты.⁴ Смесь нагревали до кипения и прибавляли по каплям в течение 2 ч раствор 3,2 мл (12,5 ммоль) алкилирующего агента (II) в 10 мл ацетонитрила. По окончании прибавления смесь кипятили еще 3 ч и оставляли при 20°C на 16 ч. Дальнейшая обработка аналогична методу, приведенному выше для соединения (Ia). Элюировали смесью хлороформ — этанол (линейный градиент от 20 до 70% этанола, общий объем 1 л, элюирующая концентрация этанола — в табл. 1). Перекристаллизовывали из смеси этанол — вода (95 : 5). Выход, спектр УФ и т. пл. приведены в табл. 1, спектр ПМР — в табл. 2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Chu C. K., Culler S. J. // J. Heterocycl. Chem. 1986. V. 23. № 2. P. 289—319.
2. Цилевич Т. Л., Кочеткова С. В., Щавелева И. Л., Смирнов И. П., Готтих В. П., Флорентьев В. Л. // Биоорганич. химия. 1987. Т. 13. № 9. С. 1240—1244.
3. Яворский А. Э., Кочеткова С. В., Смирнов И. П., Щавелева И. Л., Цилевич Т. Л., Готтих В. П., Флорентьев В. Л. // Биоорганич. химия. 1987. Т. 13. № 7. С. 1000—1001.
4. Ogilvie K. K., Cheriyan U. O., Radatus B. K., Smith K. O., Gallovay K. S., Kennel W. L. // Can. J. Chem. 1982. V. 60. № 16. P. 3005—3011.

Поступила в редакцию
30.XII.1987

COMPOUNDS RELATED TO ACYCLOVIR. I. SYNTHESIS OF «FULL» ANALOGUES OF NUCLEOSIDES

KOCHETKOVA S. V., TSILEVICH T. L., SMIRNOV I. P.,
SHCHAVELEVA I. L., KHORLIN A. A., GOTTIKH V. P.,
FLORENTIEV V. L.

*Institute of Molecular Biology,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

«Full» acyclic analogues of ribonucleosides, 1-(1,2,6-trihydroxy-4-oxahex-3-yl)thymine and -cytosine, 3- and 9-(1,2,6-trihydroxy-4-oxahex-3-yl)adenine, and 9-(1,2,6-trihydroxy-4-oxahex-3-yl)guanine, have been prepared by condensation of silylated nucleobases with 1,4,5,6-tetraacetoxy-3-oxahexane in the presence of Lewis acids followed by deacetylation.