



УДК 547.963.3

СОЕДИНЕНИЯ, ПОДОБНЫЕ АЦИКЛОВИРУ

II*. СИНТЕЗ АЦИКЛИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ 2'-ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИДОВ

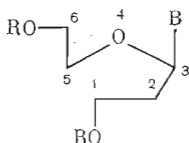
*Щавелева И. Л., Смирнов И. П., Кочеткова С. В.,
Цилевич Т. Л., Хорлин А. А., Готтих Б. П.,
Флорентьев В. Л.*

Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

Конденсацией триметилсилильных производных нуклеиновых оснований с 1,4,6-триацетокси-3-оксагексаном в присутствии кислот Льюиса с последующим аммонолизом получены 9- и 3-(1,6-дигидрокси-4-оксагекс-3-ил)аденин, 9-(1,6-дигидрокси-4-оксагекс-3-ил)гуанин, 1-(1,6-дигидрокси-4-оксагекс-3-ил)цитозин, 1-(1,6-дигидрокси-4-оксагекс-3-ил)тимин, представляющие собой ациклические аналоги 2'-дезоксинуклеозидов, в которых дезоксирибозный цикл «разорван» по C3'—C4'-связи.

Синтезу и изучению ациклических аналогов нуклеозидов в настоящее время уделяется большое внимание. Известен ряд синтетических аналогов природных нуклеозидов, например ацикловир, BIOLF-62 [2] и др., которые проявляют высокую противовирусную активность. Кроме того, ациклические аналоги нуклеозидов широко используются в качестве инструментов исследования ферментативных систем.

Настоящая работа посвящена синтезу ациклических аналогов 2'-дезоксинуклеозидов, содержащих все функциональные группы соответствующих природных оснований, причем оксипалькильный заместитель этих аналогов имитирует разомкнутый по C3'—C4'-связи 2'-деоксирибозный цикл:



(Ia-г), (IIa-д)

где (I) R = Ac; (II) R = H;

a: Ade-9; б: Ade-3; в: Gua-9; г: Cyt-1; д: Thy-1.

В качестве алкилирующего агента использовали 1,4,6-триацетокси-3-оксагексан (III), который получали из акролеина в несколько стадий по ранее описанному нами методу [3].

Силилирование нуклеиновых оснований проводили в гексаметилдисилазане при кипении в присутствии сульфата аммония. Время проведения реакции зависело от природы основания. При конденсации силилированных оснований с алкилирующим агентом (III) в качестве катализатора использовали кислоты Льюиса. Для получения аналогов пиримидиновых нуклеозидов применяли SnCl₄. Реакцию проводили в ацетонитриле при 25—30° С. При этом с выходом 95 и 96% соответственно получали 1-замещенные производные цитозина и тимина. Место замещения подтверждали с помощью УФ-спектров.

Для конденсации силилированных пуриновых оснований с ацетатом (III) в качестве катализатора применяли триметилсилилтрифторметансульфонат, полученный либо предварительно, либо непосредственно в реакционной массе. В случае аденина проведение реакции в ацетонитриле

* Сообщение I см. [1].

Синтез, температуры плавления и УФ-спектры ациклических аналогов 2'-дезоксинуклеозидов (Ia—г) и (IIa—д)

Осно-вание	Продукт реакции	Элюирующая концентрация этанола, %	Выход, %	Т. пл., °С	УФ-спектр: λ_{\max} , нм (ϵ)		
					pH 1	pH 7	pH 13
Ade	(Ia)	2—4	80	114—115 *			
»	(IIa)	35—39	73	136—137 *	257 (12 300)	258 (12 800)	259 (12 600)
»	(Iб)	4—6	50	122—123 *			
»	(IIб)	48—52	77	140—141 **	262 (12 200)	267 (9200)	267 (9000)
Gua	(Iв)	5—8	76	240 * с разл.			
»	(IIв)	55—59	80	305 * с разл.	252 (12 600)	250 (12 500)	266 (10 200)
Cyt	(Iг)	9—12	73	165—166 **			
»	(IIг)	32—35	96	154—155 **	279 (10 300)	269 (7200)	270 (7300)
Thy	(Iд)	10—13	95	94—95 **	266 (7500)	266 (7700)	265 (6000)

* Из этанола.

** Из этилацетата.

при 25° С в присутствии триметилсилилтрифлата приводило преимущественно к 3-изомеру (Iб) (табл. 1). Для получения 9-замещенных как аденина, так и гуанина оптимальным оказалось проведение реакции в смеси ацетонитрил — гексаметилдисулазан при температуре кипения смеси. Катализатор получали непосредственно в реакционной массе, добавляя эквимолярные количества триметилхлорсилана и трифторметансульфокислоты. При этом 9-замещенные производные аденина и гуанина (Ia) и (Iв) получены с выходами 73 и 80% соответственно. Строение продуктов реакции подтверждали УФ- (табл. 1) и ПМР-спектрами (табл. 2). Промежуточно образующиеся защищенные производные ациклонуклеозидов (Ia—г) либо выделяли, либо непосредственно превращали в конечные продукты (IIa—д) обработкой полунасыщенным раствором аммиака. В индивидуальном состоянии ациклические аналоги 2'-дезоксинуклеозидов (Ia—г), (IIa—д) получали с помощью хроматографии на силикагеле. Выходы и т. пл. полученных соединений приведены в табл. 1. Строение полученных ациклических аналогов 2'-дезоксинуклеозидов (Ia—г) и (IIa—д) доказывали с помощью УФ- и ПМР-спектров (табл. 1 и 2).

Строение оксиалкильного заместителя следует из химических сдвигов, относительных интенсивностей и мультиплетностей сигналов в спектрах ПМР (табл. 2). Особенно характерна мультиплетность сигналов оксигруппы в спектрах, снятых в DMSO-d₆. Эти сигналы легко идентифицируются, так как они исчезают при добавлении к образцу D₂O. В случае аналогов (IIa—д) два триплетных сигнала указывают на наличие двух первичных оксигрупп в молекуле исследуемых соединений.

Место присоединения оксиалкильного заместителя к основанию было определено по УФ-спектрам полученных соединений (табл. 1). Как показало внимательное изучение спектров ПМР в случае 9- и 3-замещенных аденинов (IIa) и (IIб), место присоединения заместителя к аденину можно уверенно определить по разнице химических сдвигов H8 и 6-NH₂ групп (в DMSO-d₆). Причем 9-изомеру соответствует разница в химических сдвигах менее 1,0 м.д., а 3-замещенному аденину — от 1,4 до 1,9 м.д.

Экспериментальная часть

Спектры ПМР снимали на приборе XL-100 (Varian, США), УФ-спектры записывали на спектрофотометре Ultrospec (LKB, Швеция). ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck, ФРГ); хроматографирование проводили в смеси хлороформ — этанол (10 и 20% этанола). Препаративную хроматографию проводили на колонках с силикагелем L 40—100 (ЧССР) (100 мл на реакционную смесь, полученную из 10 ммоль основания). Элюировали сначала хлороформом, а затем смесью хлороформ — этанол (линейный градиент от 0 до 70% этанола).

Элементный анализ полученных соединений отличался от теоретически рассчитанного не более чем на 0,2%.

Спектры ПМР ациклических аналогов нуклеозидов (Ia-г) и (IIa-д) *

Соединение	Химический сдвиг, м.д. (HCOB, Гц)										Н8 или Н5	Другие сигналы (с)
	1'-CH ₂ (м)	2'-CH ₂ (м)	НЗ' (т)	5'-CH ₂	6'-CH ₂ (м)	1'-CH ₂ CO 6'-CH ₂ CO (с)	1'-ОН 6'-ОН (т)	Н2 или Н6	Н8 или Н5	Другие сигналы (с)		
(Ia)	3,97-4,41	2,38-2,57	5,81 т (8,0)	3,48-3,67 м	3,97-4,11	1,91	-	8,26 с	8,11 с	7,18 (6-NH ₂)		
(Iб)	4,19-4,31	2,17-2,57	5,62 т (7,0)	3,60-3,80 м	4,19-4,31	2,99	-	8,47 с	8,05 с	6,07 (6-NH ₂)		
(Iв)	3,93-4,10	2,26-2,57	5,53 т (7,0)	3,40-3,62 м	3,93-4,10	1,96	-	7,37 д (7,6)	7,79 с	6,30 (2-NH ₂); 10,56 (Н1)		
(Iг)	4,13-4,17	2,03	5,94 т (8,0)	3,66 дт (4,0; 5,0)	4,13-4,17	2,02; 2,05	-	8,24 с	5,75 д (7,6)	7,12 (4-NH ₂)		
(IIa)	3,27-3,48	2,14-2,35	5,83 т (7,0)	3,27-3,48 м	3,27-3,48	-	4,53 (5,5) 4,57 (5,5)	8,37 с	8,09 с	7,18 (6-NH ₂)		
(IIб)	3,30-3,46	1,84-2,30	5,86 т (7,0)	3,13 т (6,0)	3,30-3,46	-	4,64 (5,5); 4,68 (5,5)	8,22 с	8,22 с	6,84 (6-NH ₂)		
(IIв)	3,20-3,48	2,00-2,30	5,61 дт (6,0; 7,0)	3,20-3,48 м	3,20-3,48	-	4,57 (5,5); 4,50 (5,5)	7,78 с	7,78 с	7,41 (2-NH ₂); 10,48 (Н1)		
(IIг)	3,36-3,44	1,65-1,92	5,66 т (7,0)	3,36-3,44 м	3,36-3,44	-	4,47 (6,0); 4,55 (6,0)	7,49 д (7,6)	5,72 д (7,6)	7,07 (4-NH ₂)		
(IIд)	3,34-3,52	1,70-2,00	5,70 дт (6,0; 7,0)	3,34-3,52 м	3,34-3,52	-	4,52 (5,5); 4,56 (6,0)	7,72 с	7,72 с	1,80 (5-CH ₃); 10,76 (Н3)		

* Спектры соединений (Ia-г) сняты в CDCl₃, а спектры соединений (IIa-д) — в DMSO-d₆.

Алкилирующий агент — 1,4,6-триацетокси-3-оксагексан (III) получали по методу [3].

Получение силильных производных нуклеиновых оснований. К суспензии 10 ммоль нуклеинового основания в 10 мл гексаметиладисилазана добавляли 0,2 г сульфата аммония и кипятили до полного растворения основания. Время силилирования цитозина 2 ч, тимина — 5 ч, аденина — 8 ч, гуанина — 14 ч.

Ациклические аналоги 2'-дезоксинуклеозидов (Ia), (IIa) и (IIIa). После окончания силилирования гексаметиладисилазан упаривали в вакууме, остаток растворяли в 20 мл ацетонитрила, к полученному раствору прибавляли 2,6 г (10 ммоль) 1,4,6-триацетокси-3-оксагексана (III) и затем 1,4 мл (12 ммоль) SnCl_4 . Реакционную смесь оставляли на 24 ч при 25–30° С и затем выливали в 100 мл насыщенного раствора NaHCO_3 . Экстрагировали хлороформом (5 × 50 мл), органическую фазу отделяли и сушили Na_2SO_4 . Выделение проводили двумя способами.

При получении защищенного аналога (Ia) после высушивания растворитель упаривали в вакууме, остаток хроматографировали на колонке (4,0 × 10,8 см; 100 мл) с силикагелем. Элюировали смесью хлороформ — этанол (линейный градиент от 0 до 15% этанола, элюирующая концентрация этанола приведена в табл. 1). Выход ацетильного производного (Ia) приведен в табл. 1, ПМР-спектр — в табл. 2.

При получении незащищенных аналогов (IIa) и (IIIa) после высушивания растворитель упаривали в вакууме, остаток растворяли в 60 мл полунасыщенного при 0° С метанольного раствора аммиака и оставляли на 24 ч при 20° С. Затем растворитель упаривали, остаток хроматографировали на колонке (4,0 × 10,8 см; 100 мл) с силикагелем. Элюировали смесью хлороформ — этанол (линейный градиент от 0 до 20–40% этанола, элюирующая концентрация этанола приведена в табл. 1). Выход и УФ-спектры аналогов (IIa) и (IIIa) приведены в табл. 1, ПМР-спектры — в табл. 2.

3-Замещенные аденины (Ib) и (IIb). После силилирования нуклеинового основания гексаметиладисилазан упаривали в вакууме. Остаток растворяли в 20 мл ацетонитрила, к полученному раствору добавляли 2,6 г (10 ммоль) триацетата (III) и 2,2 мл (12 ммоль) триметилсилилтрифлата. Реакционную смесь оставляли на 24 ч при 25–30° С, затем добавляли 2 мл триэтиламина и выливали при перемешивании в 150 мл насыщенного раствора NaHCO_3 . Экстрагировали хлороформом (7 × 40 мл), органическую фазу отделяли и сушили Na_2SO_4 . Осушитель отфильтровывали и фильтрат упаривали до маслообразного остатка. Выделение проводили двумя способами.

Остаток после упаривания хроматографировали на колонке (4,0 × 10,8 см; 100 мл) с силикагелем, элюировали смесью хлороформ — этанол (линейный градиент от 0 до 8% этанола, элюирующая концентрация этанола приведена в табл. 1).

Масло после упаривания хлороформа растворяли в 100 мл полунасыщенного при 0° С метанольного аммиака и оставляли на 24 ч при 20° С. Затем растворитель упаривали в вакууме, остаток хроматографировали на колонке (4,0 × 10,8 см; 100 мл) с силикагелем. Элюировали смесью хлороформ — этанол (линейный градиент от 20 до 70% этанола, элюирующая концентрация этанола приведена в табл. 1). Остаток кристаллизовали из этилацетата. Выходы и УФ-спектры аналогов (Ib) и (IIb) приведены в табл. 1, ПМР-спектры — в табл. 2.

9-Замещенные аденины (Ia) и (IIa) и гуанины — (Iв) и (IIв). К охлажденному до 35–40° С раствору силилированного основания (аденина или гуанина) добавляли 10 мл ацетонитрила, к полученной смеси прибавляли 2,02 мл (16 ммоль) триметилхлорсилана и 1,4 мл (16 ммоль) трифторметансульфонокислоты. Реакционную массу нагревали до кипения и при слабом кипении в течение 1 ч добавляли по каплям раствор триацетата (III) в 20 мл ацетонитрила. После этого кипятили реакционную смесь еще 30 мин и охлаждали до 20° С. Затем добавляли 2 мл триэтиламина и выливали при перемешивании в 150 мл насыщенного раствора NaHCO_3 . Экстрагировали хлороформом (6 × 50 мл), органическую фазу отделяли, сушили Na_2SO_4 , фильтровали и фильтрат упаривали в вакууме до маслообразного остатка. Дальнейшее выделение ациклических аналогов (Ia), (Iв), (IIa) и (IIв) проводили как в предыдущем опыте. Выходы и УФ-спектры аналогов приведены в табл. 1, их ПМР-спектры — в табл. 2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кочеткова С. В., Цилевич Т. Л., Смирнов И. П., Щавелева И. Л., Хорлин А. А., Готтих Б. П., Флорентьев В. Л. // Биоорганич. химия. 1988. Т. 14. № 6, С. 820–823.
2. Shi S. K., Culter S. J. // J. Heterocycl. Chem. 1986. V. 23. № 2. P. 289–319.
3. Цилевич Т. Л., Кочеткова С. В., Щавелева И. Л., Смирнов И. П., Готтих Б. П., Флорентьев В. Л. // Биоорганич. химия. 1987. Т. 13. № 9. С. 1240–1244.

Поступила в редакцию
30.XII.1987

COMPOUNDS RELATED TO ACYCLOVIR. II. SYNTHESIS OF ANALOGUES OF 2'-DEOXYNUCLEOSIDES

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

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

Acyclic analogues of nucleosides, viz. 9- and 3-(1,6-dihydroxy-4-oxahex-3-yl)adenine, 9-(1,6-dihydroxy-4-oxahex-3-yl)guanine, 1-(1,6-dihydroxy-4-oxahex-3-yl)cytosine and thymine, with C3'–C4' bond of the furanose ring cleaved, have been prepared by condensation of trimethylsilyl derivatives of nucleic acid bases with 1,4,6-triacetoxy-3-oxahexane in the presence of Lewis acids followed by treatment with metanolic ammonia.