



УДК 547.963.3

СОЕДИНЕНИЯ, ПОДОБНЫЕ АЦИКЛОВИРУ

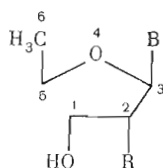
III*. СИНТЕЗ АЦИКЛИЧЕСКИХ АНАЛОГОВ 5'-ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИДОВ

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

Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

Предложен удобный общий метод синтеза 1,2-дигидрокси-4-оксагекс-3-ильных и 1-гидрокси-4-оксагекс-3-ильных производных гуанина, аденина, тимина, цитозина — ациклических аналогов 5'-дезоксиде- и 2', 5'-дидезоксинуклеозидов, конденсацией триметилсилильных производных нуклеиновых оснований с 1-ацетокси- и 1,2-диацетокси-3-этоксиде-4-оксагексаном в присутствии кислот Льюиса с последующим удалением защитных групп.

Настоящая работа посвящена синтезу ациклических аналогов 5'-дезоксиде- и 2', 5'-дидезоксинуклеозидов, гидроксилалкильный заместитель которых подобен «разорванному» по С3' — С4'-связи фуранозному циклу:



(Ia-д, (IIa-д)

где (I) R=OH; (II) R=H;

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

Аналоги нуклеозидов (Ia—д) и (IIa—д) получали конденсацией триметилсилильных производных нуклеиновых оснований с алкилирующими агентами — 1-ацетокси-3-этоксиде-4-оксагексаном (III) и 1,2-диацетокси-3-этоксиде-4-оксагексаном (IV). Оба алкилирующих агента были получены из акролеина по описанному ранее методу [2].

Силилирование нуклеиновых оснований проводили кипячением их суспензии в гексаметилдисилазане в присутствии каталитических количеств $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ до полного растворения твердой фазы. Конденсацию силильных производных пиримидиновых оснований осуществляли при 30° С в ацетонитриле в присутствии SnCl_4 . После дезацетилирования метанольным раствором аммиака получали 1-производные цитозина (Iг) и (IIг) и тимина (Iд) и (IIд) с выходами 80—90%.

Для алкилирования пуриновых оснований использовали две различные методики. При синтезе 3-производных аденина (Iб) и (IIб) реакцию проводили в ацетонитриле при 30° С в течение 2 сут. В качестве катализатора применяли триметилсилилтрифлат. В то же время при получении 9-замещенных аденина (Iа) и (IIа) и гуанина (Iв) и (IIв) конденсацию вели в смеси ацетонитрил — гексаметилдисилазан (1 : 1 по объему), причем катализатор образовывался непосредственно в реакционной среде при добавлении эквивалентных количеств триметилхлорсилана и трифторметансульфокислоты. Выход 9-замещенных аденина (Iа) и (IIа) и гуанина (Iв) и (IIв) после удаления защитных групп составлял 39—62%.

Строение полученных ациклических аналогов 5'-дезоксиде- и 2', 5'-дидезоксинуклеозидов доказывали с помощью ПМР- (табл. 2) и УФ-спектров (табл. 1). Строение оксалкильного заместителя подтверждается химическими сдвигами, мультиплетностью и соотношением интегральных интен-

* Сообщение II см. [1].

Синтез, температуры плавления и УФ-спектры ациклических аналогов 5'-дезокси- и 2',5'-дидезоксирибонуклеозидов (Ia—д) и (IIa—д)

Нуклеиновое основание	Алкоголирующий агент	Продукт	Выход, %	Т. пл., °С (этанол)	λ_{max} , нм ($\epsilon \cdot 10^{-3}$)		
					pH 1	pH 7	pH 13
Ade	(IV)	(Ia)	40	Масло	261(14,2)	261(14,4)	260(14,0)
»	(IV)	(Iб)	39	»	271(13,6)	268(10,3)	268(10,4)
»	(III)	(IIa)	50	140—141	258(11,7)	259(13,1)	259(7,6)
»	(III)	(IIб)	49	145—146	271(13,9)	265(10,2)	267(10,4)
Gua	(IV)	(Iв)	61	Разл. >300	255(10,7)	250(11,1)	265(10,2)
»	(III)	(IIв)	62	Разл. >345	247(10,6)	251(11,3)	266(9,9)
Cyt	(IV)	(Iг)	80	183—184	279(11,0)	269(7,9)	269(7,7)
»	(III)	(IIг)	88	172—173	278(12,1)	269(8,1)	269(7,8)
Thy	(IV)	(Iд)	82	170—171	266(9,7)	265(10,4)	266(6,7)
»	(III)	(IIд)	89	133—134	266(8,6)	266(8,6)	265(5,8)

сивностей сигналов в спектрах ПМР (табл. 2). Особенно характерна мультиплетность сигналов оксигрупп. Наличие в спектрах ПМР соединений (Ia—д) двух сигналов оксигрупп, триплетного и дублетного, указывает на присутствие в молекулах этих соединений первичного и вторичного гидроксила. Единственная OH-группа соединений (IIa—д) проявляется в спектре ПМР в виде триплетного сигнала с интенсивностью 1H.

В спектрах ПМР соединений (IIa—д) присутствует один набор сигналов, соответствующий рацемату. В то же время для соединений (Ia—д) наблюдается два набора сигналов, соответствующих двум рацемическим диастереомерам (R/S , R/S) и (R/S , S/R). Для протона H3 наблюдается два дублета с КССВ $J_{2'3'}$ 7 и 4 Гц. Поскольку вицинальные КССВ максимальны при трансoidном расположении протонов и минимальны в *gosh*-конформации, нетрудно показать, что большая константа (7 Гц) отвечает (R/S , R/S)-изомеру, а меньшая (4 Гц) — (R/S , S/R -изомеру). Действительно, разумно считать, что наиболее сильным пространственным взаимодействием будет взаимодействие наибольших по объему заместителей — нуклеинового основания и CH_2OH -группы (предположение о том, что внутримолекулярные водородные связи не вносят существенного вклада в стабилизацию конформеров, подтверждается сохранением значений КССВ при добавлении к образцу D_2O). Отталкивание этих заместителей, коль скоро они занимают *gosh*-положение относительно друг друга, должно повышать энергию соответствующих ротамеров. Такое взаимодействие встречается в двух конформерах из трех как в случае (R/S , R/S)-, так и в случае (R/S , S/R)-стереоизомеров. Однако для (R/S , R/S)-стереоизомеров это ротамеры с *gosh*-расположением протонов, связанных вициальным спин-спиновым взаимодействием, а для (R/S , S/R)-стереоизомеров один из таких ротамеров характеризуется трансoidным расположением взаимодействующих протонов. Очевидно, что пространственные эффекты должны привести к относительному уменьшению мольной доли ротамера с трансoidным расположением протонов в случае (R/S , S/R)-стереоизомеров и, как следствие, к уменьшению экспериментально наблюдаемой усредненной по ансамблю ротамеров константы спин-спинового взаимодействия.

Место присоединения оксиалкильного заместителя к нуклеиновому основанию определяли по данным УФ-спектроскопии (табл. 1). Дополнительную информацию получали из спектров ПМР. В частности, как было показано нами ранее [3], 9- и 3-замещенные аденины различаются разностью химических сдвигов сигналов H8 и 6-NH₂. Для 3-изомеров эта разность > 1,3 м. д., а для 9-изомеров < 1,0 м. д. Место присоединения оксиалкильного заместителя к гуаниновому циклу можно однозначно определить по более сильнополюному положению сигнала H8 9-замещенных гуанинов (< 7,9 м. д.) по сравнению с 7-замещенными (> 8,05 м. д.).

Спектры ПМР (в DMSO-d₆) ациклических аналогов 5'-дезоксипиридин-2',5'-дидезоксирибозидов (Ia-л) и (IIa-л)

Соединение (стереоизомер)	Химический сдвиг, м. д. (КССВ, Гц)								Другие сигналы
	1'-CH ₂ (м)	2'-CH ₂ или H2' (м)	H3'	5'-CH ₂ (м)	6'-CH ₂ (г)	H2 или H6	H8 или H5		
(Ia) (R/S, S/R) (R/S, R/S)	3,16-3,72	3,94-4,21	5,70д (4) 5,56д (7)	3,16-3,72	1,07 (7) 1,04 (7)	8,20с 8,23с	8,14с 8,14с	6-NH ₂ : 7,50с 6-NH ₂ : 7,24с	
(IIa) (R, S)	3,06-3,67	2,00-2,48	5,82г (6,5)	3,06-3,67	1,05 (7)	8,22с	8,10с	6-NH ₂ : 7,15с	
(Iб) (R/S, S/R) (R/S, R/S)	2,93-3,78	2,93-3,78	5,68д (5) 5,53д (7)	2,93-3,78	1,14 (7) 1,04 (7)	8,25с 8,32с	8,14с 8,16с	6-NH ₂ : 6,87с 6-NH ₂ : 6,74с	
(IIб) (R, S)	3,24-3,78	1,68-2,36	5,84г (6,5)	2,93-3,32	1,16 (7)	8,38с	8,22с	6-NH ₂ : 6,82с	
(Iв) (R/S, S/R) (R/S, R/S)	3,04-3,65	3,84-4,09	5,50д (4) 5,37д (7)	3,04-3,65	1,08 (7) 1,06 (7)	—	7,73с	2-NH ₂ : 6,42с 1-NH: 10,3с 2-NH ₂ : 6,39с	
(IIв) (R, S)	3,12-3,64	1,88-2,38	5,62г (6,5)	3,12-3,64	1,06 (7)	—	7,74с	2-NH ₂ : 6,43с 1-NH: 10,3с	
(Iг) (R/S, S/R) (R/S, R/S)	3,10-3,30	3,30-3,70	5,58д (4) 5,63д (7)	3,10-3,30	1,10 (7) 1,08 (7)	7,54д (7,6) 7,52д (7,6)	5,86д (7,6) 5,82д (7,6)	4-NH ₂ : 7,02с 4-NH ₂ : 6,96с	
(IIг) (R, S)	3,22-3,52	1,52-2,00	5,75г (7)	3,22-3,52	1,07 (7)	7,25д (7,6)	5,70д (7,6)	4-NH ₂ : 7,04с	
(Iд) (R/S, S/R) (R/S, R/S)	3,22-3,54	3,54-3,78	5,48д (4) 5,52д (7)	3,22-3,54	1,13 (7) 1,11 (7)	7,37к (1,2) 7,24к (1,2)	—	5-CH ₃ : 1,76д 3-NH: 10,85с 5-CH ₃ : 1,80д	
(IIд) (R, S)	3,14-3,56	1,53-2,10	5,72дд (7 и 5)	3,14-3,56	1,10 (7)	7,40к (1,2)	—	5-CH ₃ : 1,79д 3-NH: 10,91с	

Экспериментальная часть

Спектры ПМР снимали на спектрометре XL-100 (Varian, США), спектры УФ записывали на приборе Ultrospec (ЛКВ, Швеция). ТСХ проводили на пластинках Silufol UV₂₅₄ (ЧССР) в системе этанол — хлороформ (1 : 9). Для колоночной хроматографии использовали силикагель L 40—100 мкм (ЧССР).

Данные элементных анализов (С, Н, N) полученных соединений отличались от вычисленных не более чем на 0,3%. 1-Ацетокси-3-этокси-4-оксагексан (III) и 1,2-диацетокси-3-этокси-4-оксагексан (IV) получали по описанному ранее методу [2].

Силилирование нуклеиновых оснований. К суспензии 10 ммоль нуклеинового основания в гексаметилдисилазане (20 мл для аденина и гуанина, 10 мл для цитозина и тимина) добавляли 100 мг $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$. Смесь кипятили до полного растворения твердой фазы (6—10 ч для аденина, 12—14 ч для гуанина и 3 ч для пиридиновых оснований).

1-(1,2-Дигидрокси-4-оксагекс-3-ил)цитозин (Iг), 1-(1,2-дигидрокси-4-оксагекс-3-ил)-тимин (Iд), 1-(1-гидрокси-4-оксагекс-3-ил)цитозин (IIг) и 1-(1-гидрокси-4-оксагекс-3-ил)тимин (IIд). По окончании силилирования гексаметилдисилазан упаривали в вакууме и к остатку добавляли 20 мл абс. ацетонитрила, 10 ммоль алкилирующего агента (III) или (IV) и 1,4 мл (12 ммоль) SnCl_4 . Реакционную смесь оставили при 30° С на 1 сут, после чего выливали в 400 мл насыщенного раствора NaHCO_3 . Полученную суспензию экстрагировали хлороформом (5 × 100 мл), экстракты сушили и растворитель упаривали. Остаток растворяли в 100 мл полунасыщенного при 0° С метанольного раствора аммиака и раствор выдерживали 16 ч при 20° С. После упаривания метанола остаток хроматографировали на колонке с силикагелем (4 × 12 см, 100 см³). Элюировали смесью хлороформа с этанолом (для производных тимина линейный градиент от 0 до 20% этанола, для производных цитозина линейный градиент от 20 до 60% этанола). Фракции, содержащие целевой продукт, объединяли, растворитель упаривали в вакууме. Образцы для аналитических целей перекристаллизовывали из спирта. Выходы, температуры плавления и УФ-спектры аналогов (Iа—д) и (IIа—д) приведены в табл. 1, спектры ПМР — в табл. 2.

3-(1,2-Дигидрокси-4-оксагекс-3-ил)аденин (Iб) и 3-(1-гидрокси-4-оксагекс-3-ил)аденин (IIб). По окончании силилирования гексаметилдисилазан упаривали в вакууме, к остатку добавляли 20 мл абс. ацетонитрила, 10 ммоль алкилирующего агента (III) или (IV) и 2,2 мл (12 ммоль) триметиламинтрифлата и раствор оставляли при 30° С на 2 сут. К смеси добавляли 2 мл триэтиламина и выливали в 200 мл насыщенного раствора NaHCO_3 . Экстрагировали хлороформом (5 × 50 мл), экстракты сушили Na_2SO_4 и растворитель упаривали. Остаток растворяли в 100 мл полунасыщенного при 0° С метанольного раствора аммиака и оставляли на 16 ч при 20° С. После упаривания метанола остаток хроматографировали на колонке с силикагелем (4 × 12 см, 100 см³), элюируя смесью хлороформа с этанолом (линейный градиент от 20 до 60% этанола). Фракции, содержащие продукт, объединяли, растворитель упаривали в вакууме. Аналитический образец перекристаллизовывали из спирта. Выходы, температуры плавления и УФ-спектры соединений (Iб) и (IIб) приведены в табл. 1, ПМР-спектры — в табл. 2.

9-(1,2-Дигидрокси-4-оксагекс-3-ил)гуанин (Iв) 9-(1-гидрокси-4-оксагекс-3-ил)гуанин (IIв). По окончании силилирования гексаметилдисилазан не упаривали, но непосредственно к полученному раствору последовательно добавляли 10 мл абс. ацетонитрила, 15 ммоль алкилирующего агента (III) или (IV), 2,4 мл (15 ммоль) триметиламинтрифлата и 1,6 мл (15 ммоль) трифторметансульфокислоты. Полученный раствор нагревали при слабом кипении 8 ч и оставляли на 16 ч при 20° С. После добавления 4 мл триэтиламина смесь выливали в 200 мл насыщенного раствора NaHCO_3 . Дальнейшее выделение проводили как в предыдущем опыте. Выходы, температуры плавления и УФ-спектры соединений (Iв) и (IIв) приведены в табл. 1, спектры ПМР — в табл. 2.

9-(1,2-Дигидрокси-4-оксагекс-3-ил)аденин (Iа) и 9-(1-гидрокси-4-оксагекс-3-ил)аденин (IIа). К раствору, полученному после силилирования 10 ммоль аденина (гексаметилдисилазан не упаривают), добавляли 10 мл ацетонитрила, 15 ммоль алкилирующего агента (III) или (IV), 2,4 мл (15 ммоль) триметиламинтрифлата и 1,6 мл (15 ммоль) трифторметансульфокислоты. Смесь осторожно кипятили 12 ч, дважды, через 4 и 8 ч, добавляя по 5 ммоль алкилирующего агента, 0,39 мл (2,5 ммоль) триметиламинтрифлата и 0,24 мл (2,5 ммоль) трифторметансульфокислоты, и затем оставляли на 16 ч при 20° С. Дальнейшее выделение проводили как при получении 3-замещенных производных аденина. Выходы, температуры плавления и УФ-спектры соединений (Iа) и (IIа) приведены в табл. 1, спектры ПМР — в табл. 2.

ЛИТЕРАТУРА

1. Щавелева И. Л., Смирнов И. П., Кочеткова С. В., Цилевич Т. Л., Хорлих А. А., Готтих Б. П., Флорентьев В. Л. // Биоорганич. химия. 1988. Т. 14. № 6. С. 824—827.
2. 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.
3. Кочеткова С. В., Цилевич Т. Л., Смирнов И. П., Щавелева И. Л., Готтих Б. П., Флорентьев В. Л. // Биоорганич. химия. 1988. Т. 14. № 6. С. 820—823.

Поступила в редакцию
30.XII.1987

COMPOUNDS RELATED TO ACYCLOVIR. III. SYNTHESIS OF ANALOGUES OF 5'-DEOXYNUCLEOSIDES

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

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

A convenient method has been proposed for the synthesis of 1,2-dihydroxy-4-oxahex-3-yl and 1-hydroxy-4-oxahex-3-yl derivatives of guanine, adenine, thymine and cytosine, acyclic nucleoside analogues lacking the 3'—4' bond.