



УДК 547 [854 + 857]

СОЕДИНЕНИЯ, ПОДОБНЫЕ АЦИКЛОВИРУ V*. СИНТЕЗ И ПРОТИВОВИРУСНАЯ АКТИВНОСТЬ КАРБЭТОКСИАЛКОКСИМЕТИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ

*Щавелева И. Л., Кочеткова С. В., Цилевич Т. Л.,
Владыко Г. В.*, Коробченко Л. В.*, Бореко Е. И.*,
Смирнов Н. П., Хорлин А. А., Готтих В. П.,
Флорентьев В. Л.***

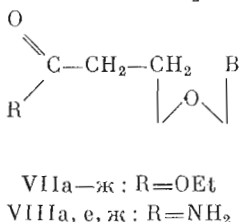
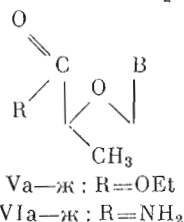
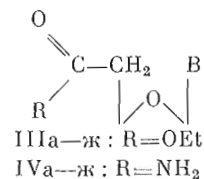
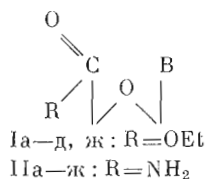
Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта Академии наук СССР, Москва;

** Белорусский НИИ эпидемиологии и микробиологии Минздрава БССР, Минск*

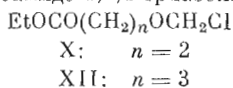
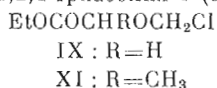
Синтезированы этиловые эфиры и амиды карбоксиметокси-, α - и β -карбоксиметокси- и γ -карбоксипропоксиметильных производных аденина, гуанина, цитозина, тимина, урацила, 1,2,4-триазол-3- и -5-карбоксамида. Изучена противовирусная активность полученных соединений.

Настоящая работа продолжает исследования по синтезу ациклических аналогов нуклеозидов (см. [2—4] и ссылки в них) с целью выяснения связи между строением ациклонуклеозидов и их противовирусной активностью. Полученные до настоящего времени соединения представляли собой «истинные» аналоги нуклеозидов, поскольку они не несли заряженных функциональных групп. Логическим развитием этих исследований является изучение соединений, имитирующих нуклеотиды. Синтезу таких «ациклонуклеотидов», содержащих в качестве заряженной группы карбоксил, и посвящено настоящее сообщение.

Учитывая стратегическую цель исследований, все соединения были получены в виде этиловых эфиров — производных, легко преодолевающих клеточную мембрану. Кроме того, были синтезированы амиды кислот, поскольку эти соединения представляют самостоятельный интерес.



B-цитозилил-1 (а), тимидилил-1 (б), урацилил-1 (в), аденилил-9 (г), гуанилил-9 (д), 3-карбоксамидо-1,2,4-триазолил-1 (е), 5-карбоксамидо-1,2,4-триазолил-1 (ж)



* Предыдущее сообщение см. [1].

** Автор, которому следует направлять корреспонденцию.

Выходы, условия реакции и свойства ациклических аналогов нуклеозидов

Алкилирующий агент	Температура реакции, °С (время, ч)	Продукт реакции	Средняя альюлирующая концентрация этанола, %	Выход, %	Т. пл., °С (из этанола)	Амиды	Средняя альюлирующая концентрация этанола, %	Выход, %	Т. пл., °С (из этанола)
(IX)	20 (16)	(Ia)	20	35	190—191	(IIa)	*	74	240—241 с разл.
	20 (16)	(Iб)	0	39	139—140	(IIб)	20	80	205—207
	20 (16)	(Iв)	0	44	88—89 ^{2*}	(IIв)	*	60	251—253
	20 (16)	(Iг)	4	40	194—195	(IIг)	*	74	249—251
	84 (10)	(Iд)	19	10	211—213	(IIд)	1*	42	257 с разл.
	20 (24)	(Iж)	0	13	85—86	(IIе)	44	10	130—132
(X)	20 (1)	(IIIa)	26	49	174—177	(IVa)	64	34	209—210
	20 (1)	(IIIб)	0	72	112—115	(IVб)	13	47	191—194
	20 (1)	(IIIв)	3	82	65—67 ^{2*}	(IVв)	17	37	196—198
	20 (16)	(IIIг)	4	40	137—139	(IVг)	*	40	234—236
	84 (10)	(IIIд) ^{3*}	21	61	300 с разл.	(IVд)	*	40	260 с разл.
	20 (24)	(IIIе)	7	7	108—110	(IVе)	44	2	232—233
	20 (24)	(IIIж)	0	27	92—93	(IVж)	15	18	204—206
(XI)	84 (4)	(Va)	15	72	193—196	(VIa)	*	70	205—207
	84 (1)	(Vб)	0	52	205—207 ^{4*}	(VIб)	*	73	169—171
	84 (0,5)	(Vв)	1	44	78—81 ^{2*}	(VIв)	*	87	180—182
	20 (24)	(Vг)	4	35	166—168	(VIг)	*	63	234—236
	84 (4)	(Vд)	13	22	228—231 ^{1*}	(VIд)	*	49	264 с разл.
	20 (24)	(Ve)	8	3	127—128	(VIе)	32	9	138—139
	20 (24)	(Vж)	0	41	Масло	(VIж)	15	26	149—150
(XII)	20 (24)	(VIIa)	12	35	173—175	(VIIIa)	*	81	162—164
	35 (1)	(VIIб)	3	54	90—91				
	35 (1)	(VIIв)	0	38	93—95				
	20 (24)	(VIIг)	6	36	157—158				
	35 (24)	(VIIд)	13	23	210—212				
	20 (16)	(VIIе)	11	9	100—102	(VIIIе)	36	12	195—197
	20 (16)	(VIIж)	6	6	86—88	(VIIIж)	22	2	156—158

* Выделяли кристаллизацией из этанола. ** Из эфира. ** Смесь 9- и 7-изомеров в соотношении 27 : 1. * Из изопропанола.

Алкилирующие агенты (IX)—(XII) были получены хлорметилированием этиловых эфиров соответствующих гидроксикислот. Взаимодействие хлоридов (IX)—(XII) с триметилсилильными производными тимина, урацила или цитозина или с натриевой солью аденина приводит к карбэтоксикалкосиметильным производным (Ia—г), (IIIa—г), (Va—г) и (VIIa—г). Производные гуанина (Id), (IIIд), (Vд) и (VIIд) синтезировали по разработанному ранее методу [5]. Дизфиры, полученные алкилированием натриевой соли этилового эфира 1,2,4-триазол-3-карбоновой кислоты, не выделяли, а селективным амидированием в контролируемых условиях присоединенной к гетероциклу карбэтоксигруппы превращали в моноамиды (Iж), (IIIе, ж), (Ve, ж) и (VIIе, ж) (табл. 1).

Эфиры (Ia—ж), (IIIa—ж), (Va—ж) и (VIIa—ж) были подвергнуты аммонолизу действием метанольного раствора аммиака. Полученные амиды представлены в табл. 1.

При проведении аммонолиза мы встретились с двумя нетривиальными явлениями. Во-первых, при действии метанольного раствора аммиака на карбэтоксикалкосиметильные производные нуклеиновых оснований параллельно с аммонолизом эфирной группы протекает отщепление нуклеинового основания, особенно заметное в случае пуриновых ацикло-

УФ-Спектры ациклических аналогов нуклеозидов

Соединение	λ_{max} , нм ($\epsilon \cdot 10^{-3}$, $\text{M}^{-1} \cdot \text{cm}^{-1}$)		
	pH 7	pH 13	pH 1
(Ia)	269 (8,5)	269 (9,5)	277 (13,9)
(Iб)	265 (8,5)	266 (7,0)	266 (9,2)
(Iв)	259 (8,3)	260 (6,6)	259 (9,1)
(Iг)	260 (12,0)	260 (12,7)	258 (12,4)
(Iд)	250 (9,0)	269 (8,2)	257 (9,4)
	275 (6,6)	258 * (7,8)	275 * (6,9)
(Iж) **	201 (10,0)		
	218 * (8,8)		
(IIa)	265 (7,5)	265 (7,4)	274 (11,0)
(IIб)	263 (8,3)	263 (6,0)	263 (8,4)
(IIв)	257 (8,6)	257 (5,8)	257 (8,6)
(IIг)	257 (13,2)	258 (12,7)	255 (13,0)
(IIд)	249 (10,4)	266 (8,6)	255 (10,0)
	267 * (8,1)	256 (8,2)	271 * (7,7)
(IIе) **	196 (11,4)		
(IIж) **	192 (12,9)		
	218 * (9,5)		
(IIIa)	268 (7,8)	269 (7,5)	276 (11,6)
(IIIб)	265 (9,5)	266 (6,7)	265 (9,2)
(IIIв)	259 (7,7)	261 (5,4)	259 (7,9)
(IIIг)	260 (13,0)	261 (12,1)	257 (12,4)
(IIIд)	252 (11,3)	267 (9,6)	256 (10,7)
(IIIе) **	206 (11,5)		
(IIIж) **	219 (8,2)		
	204 * (7,7)		
(IVa)	268 (6,9)	269 (7,0)	276 (9,6)
(IVб)	265 (6,7)	265 (5,6)	265 (8,6)
(IVв)	259 (7,2)	260 (5,7)	259 (7,6)
(IVг)	261 (8,7)	260 (10,6)	259 (11,4)
(IVд)	250 (10,1)	267 (9,1)	256 (10,1)
(IVе) **	195 (11,0)		
(IVж) **	193 (9,5)		
	212 * (7,9)		
(Va)	274 (11,2)	266 (7,6)	267 (8,1)
(Vб)	264 (9,0)	264 (9,0)	265 (7,7)
(Vв)	258 (8,96)	258 (8,4)	259 (6,5)
(Vг)	256 (13,5)	258 (14,5)	259 (14,0)
(Vд)	253 (9,2)	248 (9,2)	265 (7,6)
(Ve) **	205 (11,4)		
(Vж) **	223 (8,5)		
	198 * (8,2)		
(VIa)	267 (6,1)	268 (6,2)	276 (9,9)
(VIб)	264 (9,1)	264 (6,2)	264 (8,8)
(VIв)	258 (9,9)	257 (7,0)	258 (9,5)
(VIг)	257 (15,7)	258 (15,8)	253 (15,7)
(VIд)	251 (10,2)	267 (9,3)	256 (10,3)
(VIе) **	199 (12,1)		
(VIж) **	193 (10,3)		
	217 * (8,4)		
(VIIa)	266 (6,7)	266 (6,6)	275 (10,4)
(VIIб)	264 (9,0)	264 (6,2)	264 (9,0)
(VIIв)	258 (9,6)	257 (6,9)	258 (9,5)
(VIIг)	257 (15,2)	258 (15,2)	255 (15,2)
(VIIд)	252 (10,3)	267 (9,5)	255 (10,3)
(VIIе) **	199 (10,9)		
(VIIж) *	192 (10,1)		
	218 * (7,9)		
(VIIIa)	226 (7,1)	266 (6,9)	276 (11,0)
(VIIIе) **	198 (11,1)		
(VIIIж) **	194 (9,8)		
	212 * (9,1)		

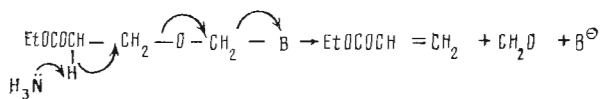
* Перегиб спектральной кривой. ** Спектр в воде.

Спектры ПМР (в DMSO-d₆) ациклических аналогов нуклеозидов

Соединение	δ, м. д.*				
	1'-CH ₂	3'-CH ₂ или 3'-CH	4'-CH ₂ или 4'-CH ₃	5'-CH ₂	CONH ₂ ус
(Ia)	5,08с	4,16с	—	—	—
(Iб)	5,08с	4,17с	—	—	—
(Iв)	5,10с	4,18с	—	—	—
(Iг)	5,59с	4,23с	—	—	—
(Iд)	5,37с	4,17с	—	—	—
(Iж)	5,92с	4,22с	—	—	—
(IIa)	5,03с	3,89с	—	—	7,16
(IIб)	5,04с	3,88с	—	—	7,16
(IIв)	5,10с	3,92с	—	—	7,15
(IIг)	5,54с	3,92с	—	—	7,18
(IIд)	5,35с	3,89с	—	—	7,16
(IIе)	5,59с	3,95с	—	—	7,18
(IIж)	5,90с	3,96с	—	—	7,15
(IIIa)**	5,04с	3,68т	2,5 т	—	—
(IIIб)**	5,12с	3,83т	2,54т	—	—
(IIIв)**	5,12с	3,81т	2,54т	—	—
(IIIг)	5,57с	3,80т	2,52т	—	—
(IIIд)	5,29с	3,66т	2,38т	—	—
(IIIе)	5,55с	3,68т	2,51т	—	—
(IIIж)	5,85с	3,74т	2,48т	—	—
(IVa)	4,98с	3,60т	2,26т	—	6,68 и 7,16
(IVб)	5,08с	3,62т	2,26т	—	6,70 и 7,19
(IVв)	5,01с	3,64т	2,27т	—	6,70 и 7,18
(IVг)	5,49с	3,68т	2,28т	—	6,71 и 7,18
(IVд)	5,28с	3,62т	2,28т	—	6,70 и 7,18
(IVе)	5,54с	3,71т	2,31т	—	6,72 и 7,21
(IVж)	5,85с	3,71т	2,28т	—	6,71 и 7,21
(Va)	5,10кв	4,07кв	1,26д	—	—
(Vб)	5,13кв	4,11кв	1,35д	—	—
(Vв)	5,20кв	4,18кв	1,32д	—	—
(Vг)	5,57кв	4,33кв	1,33д	—	—
(Vд)	5,36кв	4,22кв	1,24д	—	—
(Ve)	5,61кв	4,05кв	1,24д	—	—
(Vж)	5,91кв	4,01кв	1,22д	—	—
(VIa)	5,05кв	3,98кв	1,24д	—	7,06 и 7,15
(VIб)	5,03кв	3,95кв	1,21д	—	7,07 и 7,16
(VIв)	5,06кв	3,94кв	1,22д	—	7,07 и 7,17
(VIг)	5,33кв	4,13кв	1,17д	—	7,09 и 7,19
(VIд)	5,33кв	3,96кв	1,17д	—	7,10 и 7,21
(VIе)	5,55кв	4,03кв	1,18д	—	7,11 и 7,21
(VIж)	5,86кв	4,09кв	1,16д	—	7,06 и 7,15
(VIIa)	4,99с	3,42т	1,73кв	2,26т	—
(VIIб)	4,98с	3,04т	1,75кв	2,28т	—
(VIIв)	5,04с	3,45т	1,75кв	2,28т	—
(VIIг)	5,48с	3,48т	1,72кв	2,22т	—
(VIIд)	5,27с	3,43т	1,73кв	2,26т	—
(VIIе)	5,52с	3,50т	1,71кв	2,26т	—
(VIIж)	5,83с	3,50т	1,69кв	2,28т	—
(VIIIa)	5,09с	3,40т	1,71кв	2,07т	6,65 и 7,75
(VIIIб)	5,56с	3,49т	1,68кв	2,09т	6,63 и 7,74
(VIIIг)	5,85с	3,49т	1,69кв	2,04т	6,61 и 7,12

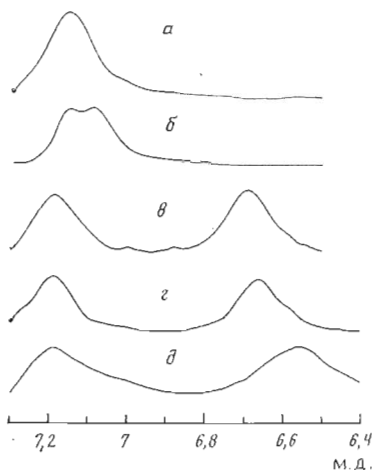
* Приведены τ сигналы 2-х-субституированного заместителя; остальные сигналы: Cyt — 7,54—7,60д (H6), 5,63—5,73д (H5), 7,10—7,23с (4'-NH₂); Ura — 7,36—7,68д (H6), 5,54—5,77д (H5), 11,2—11,24с (H3); Thy — 7,30—7,53кв (H6), 1,73—1,76д (5'-H₂), 11,10—11,21с (H3); Ade — 8,17—8,22с (H2), 8,09—8,12с (H8), 7,17—7,19с (6'-NH₂); Gua — 7,70—7,76с (H8), 6,52—6,72с (2'-NH₂), 10,38—10,45с (H1); Tri — 8,06—8,10с (H3), 8,70—8,74с (H5), 7,49—7,52 и 7,64—7,73с (3'-ONH₂), 7,50—7,55 и 8,11—8,17с (5'-CONH₂); COO Et — 1,13—1,25т (CH₃), 4,00—4,33кв (CH₂). ** В CDCl₃.

нуклеозидов. Вероятно, мы имеем дело с сопряженным β -элиминированием:



Во-вторых, карбэтоксипропоксиметильные производные показали аномально низкую реакционную способность в реакции амидирования. При проведении реакции в жестких условиях (насыщенный при 0° С спиртовой раствор аммиака, 100° С в автоклаве) удалось получить лишь три амида: (VIIIa), (VIIIe) и (VIIIж).

Строение полученных соединений было подтверждено УФ- и ПМР-спектрами (табл. 2 и 3). Химические сдвиги и мультиплетность сигналов в спектрах ПМР полностью соответствуют ожидаемым для синтезированных соединений. Отметим лишь две особенности. Если в ПМР-спектрах соединений типа (I), (II), (V)—(VIII) сигнал 1'-СН₂-группы проявляется в виде синглета (протоны энантиотопны), то в случае ациклонуклеозидов (Va—ж) и (VIa—ж) — в виде АВ-квартета (протоны диастереотопны), что указывает на присутствие в молекуле хирального центра. Вторая особенность связана с поведением сигналов протонов амидной группы в спектрах соединений типа (II), (IV), (VI) и (VIII). Вследствие затрудненного вращения вокруг С—N-связи сигналы протонов NH₂-группы обычно проявляются как два синглета (область медленного химического обмена). Интересна зависимость разницы химических сдвигов ($\Delta\nu$) этих двух протонов от строения алкоксиметильного заместителя. Как видно из рисунка, сигнал амидных протонов производного гидрокснуклеусной кислоты (IIв) представляет собой уширенный синглет, в то время как сигналы амидов (IVв), (VIв) и (VIIIe) проявляются в виде дублетов с $\Delta\nu$ 48, 10 и 51 Гц соответственно (все сигналы уширены за счет квадрупольного



Сигналы амидных протонов в спектрах ПМР соединений (IIв) (а), (VIв) (б), (IVв) (в), (VIIIe) (г) и ацетамида (д)

взаимодействия с ¹⁴N и геминального спин-спинового взаимодействия). Поскольку основной вклад в величину $\Delta\nu$ вносит анизотропия карбонильной группы (в нашем случае это проявляется в том, что ни химические сдвиги сигналов, ни $\Delta\nu$ не зависят от природы нуклеинового основания), наиболее разумным объяснением изменения разницы химических сдвигов сигналов амидных протонов может служить разная скорость вращения вокруг С—N-связи. Используя выражение для формы линии в спектре ПМР в области медленного обмена и принимая величину свободноэнергетического барьера (ΔG^\ddagger) вращения амидной группы в ацетамиде равной 10 ккал/моль [6], можно грубо оценить барьеры конформационного перехода: ~9,4, ~9,5, ~6,4 и ~5,0 ккал/моль для соединений (VIIIe), (IVв), (VIв) и (IIв) соответственно. Снижение барьеров в этом ряду соединений разумно объяснить присутствием эфирного кислорода, электроноакцепторное влияние которого понижает порядок связи С—N в амидной группе. Действительно, в соединении (IIв), где эфирный кислород отделен от карбоксильного углерода лишь двумя одинарными связями, его влияние сказывается наиболее сильно. В амиде (VIв) электроноакцепторное влияние кислорода частично компенсируется электронодонорным влиянием метильной группы, что приводит к некоторому повышению барьера вращения. Увеличение числа одинарных связей, разделяющих эфирный кислород и карбоксильный углерод, сопровождается, как и следовало ожидать, резким уменьшением влияния кислорода.

Противовирусные свойства соединений определяли в культурах тканей в отношении вирусов герпеса простого типа 1, осповакцины (ВОВ), классической чумы птиц (ВКЧП), респираторно-синцитиального (РСВ), везикулярного стоматита (ВВС), венесуэльского энцефаломиелиита лошадей (ВЭЛ) и ЕСНО-6. 12 соединений показали противовирусную активность (табл. 4).

Противовирусные свойства ациклических аналогов нуклеозидов

Соединение	Вирус *	Диаметр зоны при исследовании методом «скрининг-тест», мм		Исследование методом редукции бляшек			
		Токсичности	Подавления образования бляшек	Концентрация препарата, мкг/мл	Титр вируса, Ig БОЕ ²² /мл	Разность с контролем, Ig БОЕ/мл	ХТИ ²² *
(IIб)	РСВ	0	10	800 ^{4*}	≤ 4,2	≥ 1,46	1
				400	5,15	0,51	
				200	5,38	0,28	
				0	5,66	—	
(IIб)	ВОВ	0	28	800 ^{4*}	≤ 2,3	≥ 1,83	2
				400	≤ 2,3	≥ 1,83	
				200	3,48	0,65	
				0	4,13	—	
(IIIа)	РСВ	0	12	800 ^{4*}	≤ 3,5	≥ 1,56	1
				400	4,4	0,66	
				200	4,84	0,22	
				100	4,91	0,15	
(IIIг)	ЕСНО-6	0	20	400 ^{4*}	≤ 4,5	≥ 1,48	2
				200	≤ 4,5	≥ 1,48	
				100	5,93	0,05	
				50	5,96	0,02	
(IIIд)	ВОВ	0	10	400 ^{4*}	≤ 3,0	≥ 1,6	1
				200	4,38	0,22	
				100	4,43	0,17	
				50	4,40	0,20	
(IIIж)	ВОВ	0	12	400 ^{4*}	≤ 3,0	≥ 1,76	1
				200	3,9	0,86	
				100	4,43	0,33	
				50	4,53	0,23	
(IVг)	ВОВ	0	12	800 ^{4*}	≤ 3,0	≥ 1,6	4
				400	≤ 3,0	≥ 1,6	
				200	≤ 3,0	≥ 1,6	
				100	4,34	0,26	
(IVд)	ВОВ	0	20	800 ^{4*}	≤ 3,0	≥ 1,6	4
				400	≤ 3,0	≥ 1,6	
				200	≤ 3,0	≥ 1,6	
				100	4,2	0,4	
(IVе)	ВОВ	0	12	800 ^{4*}	≤ 3,0	≥ 1,6	1
				400	4,04	0,56	
				200	4,46	0,14	
				100	4,45	0,15	
(Va)	ВОВ	0	10	800 ^{4*}	≤ 3,0	≥ 1,69	2
				400	≤ 3,0	≥ 1,69	
				200	4,2	0,49	
				100	4,64	0,05	
(Vд)	ВРЧП	0	22	200 ^{4*}	≤ 3,6	≥ 1,43	4
				100	≤ 3,6	≥ 1,43	
				50	≤ 3,6	≥ 1,43	
				25	4,9	0,13	
0	5,03	—					

Соединение	Вирус *	Диаметр зоны при исследовании методом «скрининг-тест», мм		Исследование методом редукции бляшек			
		Токсичность	Подавление образования бляшек	Концентрация препарата, мкг/мл	Титр вируса, Ig БОЕ ^{2*} /мл	Разность с контролем, lg БОЕ/мл	ХТИ ^{3*}
(Vд)	РСВ	0	12	200 ^{4*}	≤ 4,0	≥ 1,6	2
				100	≤ 4,0	≥ 1,6	
				50	5,32	0,28	
				25	5,46	0,14	
				0	5,60	—	
(VIб)	ВВС	0	12	800 ^{4*}	≤ 3,8	≥ 1,41	1
				400	4,4	0,81	
				200	4,91	0,30	
				100	5,16	0,05	
				0	5,21	—	
(VIIг)	ВЭЛ	0	28	400 ^{4*}	≤ 4,0	≥ 1,42	2
				200	≤ 4,0	≥ 1,42	
				100	5,0	0,42	
				50	5,42	—	
				0	5,42	—	

* РСВ — респираторно-сингициальный вирус; ВОВ — вирус осповакцины; ВКЧП — вирус классической чумы птиц; ВВС — вирус везикулярного стоматита; ВЭЛ — вирус энцефаломенинги-та лошадей. ^{2*} Бляшкообразующие единицы. ^{3*} Химиотерапевтический индекс. ^{4*} Максимальная переносимая концентрация.

Наиболее активными были производные аденина (IVг) и гуанина (IVд) и (Vд). Их эффективность проявлялась в экспериментах с ВКЧП и РСВ (Vд), а также ВОВ (IVг) и (IVд). Остальные соединения оказались малоактивными.

Полученные данные подтверждают показанную ранее возможность создания новых веществ с антивирусными свойствами в ряду ациклических нуклеозидов.

Экспериментальная часть

Спектры ПМР записывали на спектрометре XL-100 (США), УФ-спектры — на приборе Ultrospec (LKB, Швеция). Хроматографию в тонком слое проводили на пластинках Silufol UV254 (ЧССР), проявляя либо смесью EtOH—CHCl₃ (20% этанола), либо смесью изопропанол — аммиак — вода (7 : 2 : 1). Для колоночной хроматографии использовали силикагель L 40/100 (ЧССР). Смесь, полученную из 10 ммоль нуклеинового основания, разделяли на колонке 3 × 16 см. Элюировали хлороформом или смесью этанола с хлороформом (линейный градиент концентрации этанола от 0% до элюирующей концентрации +15% общим объемом 1 л; средние элюирующие концентрации этанола приведены в табл. 1). Элементный анализ синтезированных соединений отличался от рассчитанного не более чем на 0,2%.

Этиловые эфиры хлорметоксиуксусной (IX), β- и α-хлорметоксипропионовых (X) и (XI) и γ-хлорметоксимасляной кислот (XII). Сухой газообразный HCl пропускали через охлажденную до 0° С смесь 15,2 г (0,5 моль) параформа и 29,5 г (0,25 моль) этилового эфира гликолевой, β- или α-гидроксипропионовой или γ-гидроксимасляной кислот в 650 мл сухого хлороформа до полного растворения твердого осадка (0,5—1 ч). Затем раствор перемешивали еще 16 ч при 0° С с безводным Na₂SO₄ и фильтровали. После удаления растворителя остаток перегоняли в вакууме. Выход хлорида (IX) 67%, т. кип. 90—100° С при 2 мм рт. ст. ПМР (CDCl₃): 5,53 с (2H, OCH₂Cl), 4,25 с (2H, α-CH₂), 4,17 кв (2H, J 7 Гц, CH₂), 1,29 т (3H, J 7 Гц, CH₃). Выход хлорида (X) 62%, т. кип. 85—95° С при 2 мм рт. ст. ПМР (CDCl₃): 5,44 с (2H, CH₂Cl), 4,14 кв (2H, J 7 Гц, CH₂), 3,93 т (2H, J 7 Гц, α-CH₂), 2,6 т (2H, J 7 Гц, β-CH₂), 1,26 т (3H, J

7 Гц, CH_3). Выход хлорида (XI) 62%, т. кип. 60—75° С при 2 мм рт. ст. ПМР (CDCl_3): 5,48 кв (2H, J —12 Гц, OCH_2Cl), 4,39 кв (1H, J 7 Гц, $\alpha\text{-CH}$), 4,19 кв (2H, J 7 Гц, CH_2), 1,45 д (3H, J 7 Гц, $\beta\text{-CH}_3$), 1,29 т (3H, J 7 Гц, CH_3). Выход хлорида (XII) 38%, т. кип. 84—96° С при 2 мм рт. ст. ПМР (CDCl_3): 5,46 с (2H, CH_2Cl), 4,14 кв (2H, J 7 Гц, CH_2), 3,72 т (2H, J 7 Гц, $\alpha\text{-CH}_2$), 2,38 т (2H, J 7 Гц, $\beta\text{-CH}_2$), 1,97 кв (2H, J 7 Гц, $\gamma\text{-CH}_2$), 1,26 т (3H, J 7 Гц, CH_3).

Карботоксикаллоксиметильные производные цитозина (Ia), (IIIa), (Va), (VIIa), тимина (Iб), (IIIб), (Vб), (VIIб), урацила (Iв), (IIIв), (Vв), (VIIв) и гуанина (Iд), (IIIд), (Vд), (VIIд). К суспензии 10 ммоль соответствующего нуклеинового основания в 10 мл гексаметилдисулазана добавляли 100 мг $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$, смесь кипятили 4—5 ч в случае тимина, урацила и цитозина и 12—14 ч в случае гуанина. Избыток гексаметилдисулазана отгоняли в вакууме и остаток растворяли в 25 мл сухого дихлорэтана. К полученному раствору прибавляли 15 ммоль хлорида (IX)—(XII) и либо оставляли при ~20° С и перемешивании, либо кипятили (условия реакции приведены в табл. 1). Растворитель упаривали в вакууме, остаток растворяли в 50 мл 50% водного этанола, кипятили 10 мин и упаривали досуха. Остаток переупаривали с абс. этанолом (3 × 20 мл) и хроматографировали на колонке с силикагелем. Фракции, содержащие продукт, объединяли, растворитель упаривали в вакууме и остаток кристаллизовали из этанола. Характеристики продуктов см. табл. 1—4.

9-Карботоксикаллоксиметильные производные аденина (Iг), (IIIг), (Vг), и (VIIг). К суспензии 15 ммоль аденина в 75 мл сухого DMF добавляли порциями 0,54 г (18 ммоль) 80% суспензии NaN в вазелиновом масле. Смесь перемешивали до прекращения выделения водорода. Затем добавляли 22,5 ммоль хлорида (IX)—(XII) и реакционную смесь перемешивали 24 ч при ~20° С. Осадок отделяли, фильтрат упаривали, остаток растворяли в 50 мл насыщенного раствора NaHCO_3 , промывали гексаном (1 × 20 мл), экстрагировали хлороформом (4 × 50 мл). Хлороформные экстракты сушили Na_2SO_4 , растворитель упаривали, остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя смесью хлороформ — этанол. Фракции, содержащие продукт, упаривали в вакууме, остаток кристаллизовали из этанола. Характеристики продуктов см. табл. 1—4.

1-(Карботоксикаллоксиметил)-1,2,4-триазол-3- и -5-карбоксамиды (Iж), (IIIе, ж), (Vе, ж) и (VIIе, ж) получали аналогично производным аденина, проводя перед разделением на колонке с силикагелем аммонолиз с 75 мл полунасыщенного при 0° С метанольного (в случае соединений (Iж), (VIIе) и (VIIж) — этанольного) раствора аммиака в смеси с 75 мл метанола (или этанола для соединения (Iж), (VIIе) и (VIIж)) в течение 1 ч при 0° С. Характеристики продуктов см. табл. 1—4.

Карбоксамидоаллоксиметильные производные нуклеиновых оснований (IIa—д), (IVa—д), (VIa—д), (VIIIa). К 5 ммоль эфиров (Ia—д), (IIIa—д), (Va—д), (VIIa) прибавляли 50 мл полунасыщенного при 0° С спиртового раствора аммиака, выдерживали 5 сут при ~20° С (в случае эфиров (VIIIе) и (VIIIж) реакцию проводили 3 сут в автоклаве при 100° С), после чего растворитель упаривали, а остаток либо кристаллизовали из этанола, либо хроматографировали на колонке с силикагелем. Характеристики продуктов см. табл. 1—4.

1-(Карбоксамидоаллоксиметил)-1,2,4-триазол-3- и -5-карбоксамиды (IIе, ж), (IVе, ж), (VIе, ж) (VIIIе, ж) получали аналогично 5-карбоксамиду (Iж), проводя аммонолиз с 75 мл полунасыщенного при 0° С метанольного раствора аммиака в течение 2 сут при ~20° С, после чего растворитель упаривали, а остаток хроматографировали на колонке с силикагелем. Характеристики продуктов см. табл. 1—4.

Противовирусную активность соединений определяли методами «скрининг-тест» и редукции бляшек под агаровым покрытием. С вирусом ЕСНО исследования выполняли на пассируемых кожно-мышечных клетках эмбриона человека, с РСВ — на перевиваемых клетках легкого кролика (RL-33), с остальными вирусами — на первично трипсинизированных фибробластах эмбрионов кур.

Критериями противовирусной активности считали наличие зоны подавления образования бляшек и снижения титра вируса в сравнении с необработанным препаратом-контролем. Химиотерапевтический индекс (ХТИ) рассчитывали как отношение максимальной концентрации ацикло-нуклеозида, переносимой тканевой культурой, к минимальной активной концентрации. Подробно методика исследования и оценка получаемых результатов описана ранее [7].

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хорлин А. А., Смирнов И. П., Кочеткова С. В., Цилевич Т. Л., Щавелева И. Л., Готтих Б. П., Флорентьев В. Л. // Биооргани. химия. 1989. Т. 15. № 4. С. 530—533.
2. Кочеткова С. В., Цилевич Т. Л., Смирнов И. П., Щавелева И. Л., Готтих Б. П., Флорентьев В. Л. // Биооргани. химия. 1988. Т. 14. № 6. С. 820—823.
3. Щавелева И. Л., Смирнов И. П., Кочеткова С. В., Цилевич Т. Л., Хорлин А. А., Готтих Б. П., Флорентьев В. Л. // Биооргани. химия. 1988. Т. 14. № 6. С. 824—827.
4. Смирнов И. П., Кочеткова С. В., Щавелева И. Л., Цилевич Т. Л., Готтих Б. П., Флорентьев В. Л. // Биооргани. химия. 1988. Т. 14. № 7. С. 921—925.
5. Кочеткова С. В., Хорлин А. А., Смирнов И. П., Щавелева И. Л., Цилевич Т. Л., Готтих Б. П., Флорентьев В. Л. // Биооргани. химия. 1989. Т. 15. № 1. С. 133—135.
6. Stewart W. E., Siddall T. H. // Chem. Rev. 1970. V. 70. № 3. P. 517—549.
7. Вотьяков В. И., Бореко Е. И., Владыко Г. В., Карако Н. И., Галегов Г. А., Леонтьева Н. А. Первичное изучение антивирусных свойств синтетических и природных соединений. Минск, 1986.

Поступила в редакцию
21.XII.1988

COMPOUNDS RELATED TO ACYCLOVIR. V. SYNTHESIS AND ANTIVIRAL ACTIVITY OF CARBETHOXYALKOXYMETHYL DERIVATIVES OF NUCLEIC BASES

SHCHAVELEVA I. L., KOCHETKOVA S. V., TSYLEVICH T. L., VLADYKO G. V.*,
KOROVCHENKO L. V.*, BOREKO E. I.*, SMIRNOV I. P., KHORLIN A. A.,
GOTTICH B. P., FLORENTIEV V. L.

*V. A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Academy
of Sciences of the USSR, Moscow;*

** Byelorussian Research Institute of Epidemiology
and Microbiology, Minsk*

Ethyl esters and amides of carboxymethoxy-, α - and β -carboxyethoxy- and γ -carboxypropoxymethyl derivatives of adenine, guanine, cytosine, uracil, thymine, 1,2,4-triazole-3- and -5-carboxamide were synthesized and their antiviral activity was studied.