



УДК 547.857.7'421.057

© 1991 г.

А. В. Цытович, М. В. Кочеткова, Е. В. Кузнецова,
Б. И. Мицнер, В. И. Швеи

АЦИКЛИЧЕСКИЕ АНАЛОГИ НУКЛЕОЗИДОВ I. ИССЛЕДОВАНИЕ СПОСОБА СИНТЕЗА АЛЛЕНОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ НУКЛЕОЗИДОВ

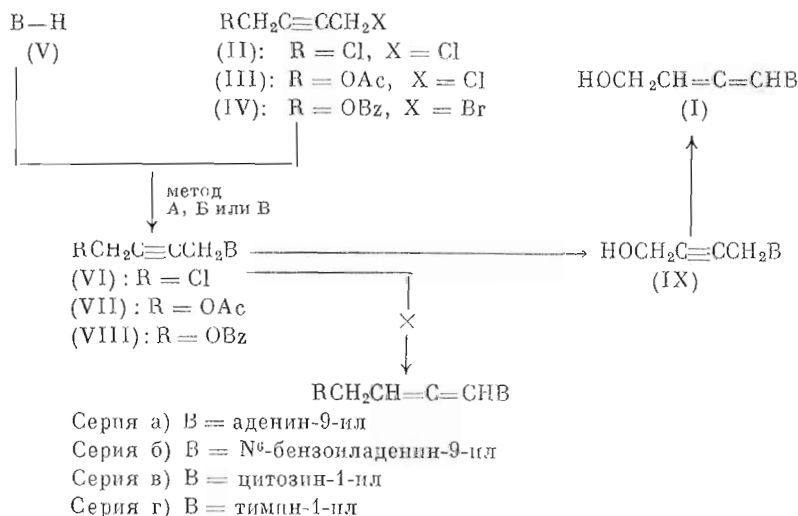
Московский институт тонкой химической технологии им. М. В. Ломоносова

Предложен вариант схемы синтеза аденаллена и циталлена, позволяющий получать целевые соединения с общим выходом 30—35% на исходные нуклеиновые основания. Для алкилирования последних использовали 1-бензоилокси-4-бром-2-бутин. Исследованы различные методы проведения ацетилен-алленовой перегруппировки под действием *трет*-бутилата калия и димсилнатрия.

Выявление среди ациклических аналогов нуклеозидов таких противовирусных средств, как ацикловир, ганцикловир и др. [1], обусловило расширение исследований, направленных на поиск новых соединений, которые обладали бы антиретровирусной активностью. Например, в 1988 г. И. Жемличкой с сотр. были синтезированы 9-(4-гидрокси-1,2-бутадиен-1-ил)аденин (Ia, аденаллен, см. схему 1) и 1-(4-гидрокси-1,2-бутадиен-1-ил)цитозин (Ib, циталлен), которые проявили высокую активность по отношению к вирусу иммунодефицита человека (ВИЧ) в сочетании с низкой токсичностью [2]. Ни предложенный авторами метод синтеза этих соединений [3, 4], ни его модернизация [5] не являются удовлетворительными в первую очередь из-за низкого общего выхода целевых веществ.

Использованная в работах [3—5] схема модифицирована нами с целью повышения выходов на стадии конденсации ациклических (II)—(IV) и гетероциклических (V) компонентов и перегруппировки гидроксibuтиновых производных в алленовые (I) (схема 1).

Схема 1



Сокращения: DMS-Na — димсилнатрий.

Синтез ациклических аналогов нуклеозидов

Соединение	Метод синтеза	Алкилирующий агент	Изомерный состав реакционной смеси *	Выход, %	Т. пл. ***, °C	УФ-спектр	
						$\lambda_{\max}$, нм	ϵ , $M^{-1} \cdot cm^{-1}$
VIa	A	II	1 : 0	32	>250 (разл.)	259	12 700
	B		6 : 1	45			
VIIa	A	III	7 : 1	40	175—178	260	15 400
	B		10 : 1	53			
VIIIa	A	IV	1 : 0	46	192—194	259	14 900
	B		10 : 1	72			
VIб	B	II	1 : 1	10	175—178	262	13 550
VIв	A	II	Смесь изомеров **	15	>250 (разл.)	272	6 820
	B		3 : 1	25			
VIIв	A	III	Смесь изомеров **	13	199—201	270	7 240
	B		10 : 1	48			
VIIIв	B	IV	1 : 0	79	189—191	272	7 650
	A		Смесь изомеров **	15			
VIг	B	II	10 : 1	52	197—199	262	11 240
	A		Смесь изомеров **	13			
VIIг	B	III	10 : 1	52	175—178	267	8 320
	A		Смесь изомеров **	13			
VIIIг	B	IV	20 : 1	63	160—163	267	8 480
	B		1 : 0	72			

* Указаны соотношения 9- и 7-изомеров для аденина (а) и N⁶-бензоиладенина (б), 1- и 3-изомеров для цитозина (в) и тимина (г).

** Соотношение изомеров не определяли, представлен выход смеси изомеров.

*** Вещества кристаллизовали из абс. метанола (серия а) и из смеси метанол—этилацетат, 1 : 1 (серии б—г).

Для синтеза замещенных бутиновых производных гетероциклических оснований (VI)—(VIII) мы провели сравнение эффективности применения трех различных методов конденсации — А, Б и В (табл. 1). При этом в качестве ациклического компонента использовали легкодоступный 1,4-дихлор-2-бутин (II). При проведении реакции по методу А смесь основания (V), дихлорбутина (II) и карбоната калия перемешивали в DMSO, по методу Б — вводили в реакцию натриевую соль основания (аденина) в DMF, по методу В предварительно полученное триметилсилильное производное основания нагревали в ацетонитриле в присутствии дихлорида (II). При использовании триметилсилильного производного тимина (метод В) реакция протекала с достаточной региоселективностью и выходом 1-изомера 52%. Для триметилсилильного производного цитозина региоселективность реакции снижается одновременно с падением выхода 1-изомера до 30%. При введении в реакцию триметилсилильного производного N⁶-бензоиладенина была получена трудноразделимая смесь алкиладенинов с общим выходом 20%.

Метод А следует признать неудовлетворительным для пириимидиновых оснований ввиду малой эффективности и низкой региоселективности процесса. В случае аденина эффективность метода А несколько ниже, чем метода Б, при этом наблюдается сильное осмоление реакционной массы. Лучшим из трех методов для получения производных аденина следует признать метод Б: выход продукта конденсации (VIa) составляет 45%. Замена алкилирующего агента на 1-ацетокси-4-хлор-2-бутин (III) не дает существенного увеличения выхода и региоселективности реакций (табл. 1). Наилучшие результаты были получены нами при использовании в качестве алкилирующего агента 1-бензоилокси-4-бром-2-бутина (IV). При этом выходы целевых веществ (VII а, в, г) достигают 72—79%.

Структуру синтезированных соединений подтверждали методами УФ- и ПМР-спектроскопии. В спектрах ПМР определяли положение характе-

Параметры ПМР-спектров бутиновых производных нуклеиновых оснований

Соединение	Химический сдвиг, δ , м.д.		КССВ, Гц $J_{1', 4'}$	Прочие протоны, δ , м.д. (J , Гц)
	1'-Н	4'-Н		
VIa *	5,15т	4,28т	1,9	H-8: 8,20с H-2: 8,15с
VIIa 3*	5,09т	4,68т	1,8	H-8: 8,20с H-2: 8,16с NH ₂ : 7,28ус CH ₃ CO: 2,05с
VIIIa 3*	5,10т	5,00т	1,0	H-8: 8,00с H-2: 7,95с C ₆ H ₅ CO: 7,80—7,55м NH ₂ : 7,28с
IXa 2*	5,09т	4,14дт	1,9	H-8: 8,36с H-2: 8,3с NH ₂ : 7,26с OH: 5,26т (6,0)
VIb 1*	4,65т	4,28т	2,5	H-6: 7,65д (7,9) H-5: 5,85д
VIIb 3*	4,72т	4,53т	2,4	H-6: 7,65д (8,0) NH ₂ : 7,25с H-5: 5,65д
VIIIb 2*	5,07т	4,73т	1,9	CH ₃ CO: 2,05с H-6: 7,95д (7,9) C ₆ H ₅ CO: 7,73—7,50м NH ₂ : 7,3с
IXb 3*	4,49т	4,12дт	1,9	H-5: 5,90д H-6: 7,68д (7,9) NH ₂ : 7,15с H-5: 5,75д
VIr 1*	4,59т	4,29т	2,2	OH: 5,25т (5,9) H-6: 7,50к (1,1) CH ₃ : 1,88д
VIIr 3*	4,72т	4,51т	2,1	H-6: 7,60к (1,2) CH ₃ CO: 2,05с CH: 1,75д
VIIIr 2*	4,95т	4,58т	2,0	H-6: 8,05к (1,0) C ₆ H ₅ CO: 7,52—7,4 м CH ₃ : 1,95д
IXr 3*	4,49т	4,19дт	2,0	H-6: 7,55к (1,1) OH: 5,21т (5,9) CH ₃ : 1,78д

* Растворитель — CD₃OD.2* Растворитель — CDCl₃.3* Растворитель — DMSO-d₆.

ристических сигналов протонов CH₂-групп ациклической части молекулы (табл. 2), которые полностью подтверждают строение синтезированных веществ. Отнесение к 3- (для пиримидинов) или 7-изомерам (для пуринов) проводили сравнением их УФ-спектров со спектрами полученных 1- или 9-изомеров соответственно, как рекомендовано в [6]. Изомерный состав определяли после выделения индивидуальных соединений с помощью колоночной адсорбционной хроматографии. Спектральные характеристики совпадали с литературными данными для синтезированных ранее соединений (VIa, в, г) [4, 7], (VIIa) [5], (VIIIa) [3].

Дальнейшее превращение продуктов конденсации (VI) — (VIII) в гидроксibuтиновые производные (IX) существенно легче происходит для ацильных производных (VII), (VIII). Сложноэфирная связь расщепляется в мягких условиях (метанол, насыщенный NH₃, 0° C) и с количественным выходом, в то время как для замещения атома хлора в соединении (VI) на гидроксигруппу необходимо длительное нагревание в 0,1 н. HCl [4].

Таким образом, нами определена применимость методов конденсации для каждого основания (для пиримидиновых оснований — алкилирование их триметилсилильных производных, для аденина — введение в реакцию

Схема 2



На примере изомеризации 4'-ацилокси- и гидроксibuтиновых производных аденина (VIIa, VIIIa и IXa) и цитозина (IXb) в аллены нами проведено сравнение эффективности двух различных по силе оснований — *трет*-бутилата калия и димсилнатрия. Следует отметить, что наличие ацильного заместителя затрудняет сдвиг в алленовую систему, сопряженную с гетероциклом. Например, ацетокси- и бензоилоксибутиновые производные аденина (VIIa, VIIIa) практически не изомеризуются в соответствующие аллены под действием сильных оснований. Для того чтобы оценить скорость установления равновесия, мы исследовали процесс изомеризации соединения (IXa) во времени. Кривые накопления продукта реакции для двух типов оснований (Bu^tOK и DMS-Na) в зависимости от условий и соотношения компонентов приведены на рис. 1 и 2. Результаты эксперимента, рассчитанные по уравнению обратимой реакции первого порядка [9], суммированы в табл. 3.

Таблица 3

Результаты изомеризации гидроксibuтиновых производных в алленовые при 20°C

Исходное вещество	Основание	Исходное вещество/ основание, моль/моль	K	k ₁	k ₋₁	Время достижения равновесия, ч
				мин ⁻¹		
IXa	Bu ^t OK	1 : 2 *	1,50	0,037	0,024	0,83
		1 : 1,2		0,102	0,068	0,41
		1 : 2		0,066	0,044	0,66
	DMS-Na	1 : 1,1	1,50	0,043	0,029	0,75
		1 : 1,2		0,114	0,076	0,50
		1 : 2		0,192	0,128	0,25
IXв	Bu ^t OK	1 : 2	1,70	—	—	8,0
	DMS-Na	1 : 2		—	—	5,0

* Измерение при -10°C .

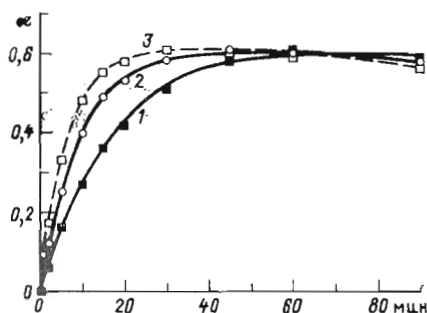


Рис. 1. Кривые накопления аденаллена (Ia) при изомеризации гидроксibuтинового производного (IXa) с помощью Bu^tOK в разных условиях (указаны соотношение (IXa) — Bu^tOK , моль/моль; t , °C): 1 : 1,2; —10 (1), 1 : 1,2; 20 (2), 1 : 2; 20 (3)

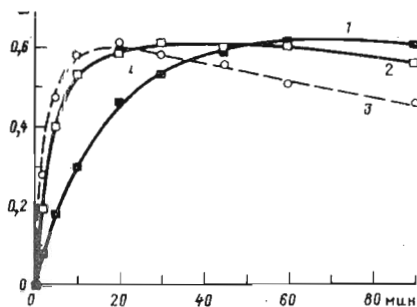


Рис. 2. Кривые накопления аденаллена (Ia) при изомеризации гидроксibuтинового производного (IXa) с помощью DMS-Na (20° C) при соотношении (IXa) — DMS-Na (моль/моль) 1 : 1,1 (1), 1 : 1,2 (2), 1 : 2 (3)

Анализ полученных данных показывает, что гидроксibuтиновые производные (IXa, в) эффективно изомеризуются в соответствующие аллены (Ia, в) под действием Bu^tOK и DMS-Na в интервале мольных соотношений нуклеозид — основание 1 : 1,1 — 1 : 2. При этом выход целевых алленов слабо зависит от природы основания и его концентрации в реакционной смеси и составляет 55—60%; в случае цитозинсодержащего соединения (IXв) время достижения равновесного состояния существенно больше, чем для аденинового производного (IXa). Как и предполагалось, время достижения равновесия зависит как от силы основания, так и от соотношения субстрат — катализатор и составляет для гидроксibuтинового производного аденина (IXa) при использовании Bu^tOK 25—50 мин, а DMS-Na — 15—40 мин. При этом конечный выход аллена (Ia) остается неизменным. Важно отметить, что наблюдается некоторое падение выхода продукта реакции (Ia) при выдерживании реакционной смеси дольше времени достижения равновесия за счет образования различных побочных продуктов типа соединения (XI) и более высокомолекулярных соединений (ср. [4]).

Таким образом, нами изучен процесс изомеризации гидроксibuтиновых производных нуклеиновых оснований (IXa, в) в гидроксialленовые производные (Ia, в). Показано, что скорость достижения равновесного состояния зависит от условий реакции (силы основания, соотношения реагентов, температуры), тогда как выход продукта изомеризации практически не зависит от перечисленных выше факторов. Для препаративных целей более удобно использовать *tert*-бутилат калия.

1-(4-Гидрокси-1,2-бутадиен-1-ил)цитозин (Iв) и 9-(4-гидрокси-1,2-бутадиен-1-ил)аденин (Ia) получены приведенными выше методами с выходами соответственно 34 и 31% на исходное основание после колоночной хроматографии и последующей кристаллизации из смеси метанол — этилацетат. Их спектральные характеристики совпадают с описанными в литературе [4].

Экспериментальная часть

Спектры ПМР получены на спектрометре Bruker MSL-200 (ФРГ); УФ-спектры — в метаноле на приборе Shimadzu UV 240 (Япония). Спектральные характеристики всех синтезированных соединений приведены в табл. 1, 2, 4. При описании спектров ПМР приняты следующие сокращения: с — синглет, д — дублет, т — триплет, к — квартет, м — мультиплет. ТСХ проводили на пластинках с силикагелем Silufol UV-254 (ЧСФР) и Kieselgel F₂₅₄ (Fluka, Швейцария) в системах хлороформ — метанол, 9 : 1 (А), хлороформ — метанол, 8 : 2 (Б). В качестве сорбента для препаративной колоночной хроматографии использовали силикагель L 40/100 мкм (Chemapol, ЧСФР). Синтез алкилирующих агентов описан ранее в работах: для 1,4-дихлорбутина — [4], 1-ацетокси-4-хлор-2-бутина — [5], 1-бензоилокси-4-бром-2-бутина — [3]. Элементный состав всех синтезированных соеди-

Параметры ПМР-спектров (DMSO- d_6) алленовых производных нуклеиновых оснований

Соединение	Химический сдвиг, δ , м.д.					КССВ, Гц				Прочие протоны, δ , м.д. (J, Гц)
	4'-Н ддл	3'-Н дт	1'-Н дт	NH ₂ ус	ОН т	J _{1', 4'}	J _{1', 3'}	J _{3', 4'}	J _{4', ОН}	
Ia	4,13	6,21	7,38	7,35	5,18	3,0	6,0	5,0	6,0	H-8: 8,20с H-2: 8,17с
Ib	4,15	6,23	7,42	7,35	5,15	3,0	6,0	5,0	5,2	H-5: 5,95д (8,0) H-6: 7,65д

нений, определенный на приборе CHNO-Rapid (Heraeus, ФРГ), отличался от вычисленного не более чем на 0,2% по всем элементам.

Обработка реакционных смесей. После завершения процесса реакционную смесь фильтровали, фильтрат упаривали и остаток сушили 2 ч при 20° С и 0,1 мм рт. ст., растворяли в метаноле (1: 20), в полученный раствор добавляли силикагель (1: 5 по массе), растворитель удаляли в вакууме при 20° С. Сорбированное таким образом вещество наносили на колонку (3 × 25 см), предварительно заполненную силикагелем, элюировали хлороформом, повышая полярность системы постепенным добавлением метанола до значений системы А (для соединений серий а, б, г) или системы Б (для соединений серии в). Фракции, содержащие индивидуальное вещество, объединяли, растворитель удаляли в вакууме, остаток после сушки (2 ч) при 20° С и 0,1 мм рт. ст. подвергали кристаллизации в указанных ниже растворителях.

Синтез нуклеозидов (IV)–(VIII)

Метод А. К раствору 1 ммоль основания (V) в абс. DMSO при перемешивании в токе аргона добавляли свежeproкаленный K₂CO₃ (в мольном соотношении 1: 1 с алкилирующим агентом), затем алкилирующий агент (для соединений (II), (III), (IV) соответственно — 4, 2 и 1,2 ммоль). Смесь перемешивали при 20° С 12–24 ч и обрабатывали по стандартной методике (см. выше).

Метод Б. К суспензии 1 ммоль аденина в абс. DMF при перемешивании в токе аргона добавляли гидрид натрия (1,2 ммоль; 80% суспензия в вазелиновом масле, предварительно трижды промытая пентаном), перемешивали 30 мин, затем добавляли алкилирующий агент (для соединений (II), (III) и (IV) соответственно — 4, 2 и 1,2 ммоль), через 8 ч реакционную смесь подвергали стандартной обработке.

Метод В. К суспензии нуклеинового основания (V) (4 ммоль) в 15 мл гексаметилдисилазана добавляли 3 мл триметилхлорсилана и нагревали при кипении 6–12 ч до полного растворения основания. Избыток силилирующих агентов удаляли в вакууме, остаток растворяли в 10 мл абс. ацетонитрила, смешивали с раствором алкилирующего агента, для соединений (II), (III) и (IV) соответственно — 16, 6 и 4,5 ммоль — в 5 мл того же растворителя и нагревали при кипении 1–4 ч, контролируя окончание реакции по отсутствию исходного основания (V) с помощью ТСХ. После охлаждения обрабатывали как указано выше.

9-(4-Гидрокси-2-бутин-1-ил)аденин (IXa). а) Нагревали при кипении 4 ммоль (850 мг) хлорпроизводного (VIa) в 0,1 н. HCl 12 ч, охлаждали и обрабатывали по стандартной методике. Остаток кристаллизовали из смеси метанол — этилацетат, 1: 7. Выход 410 мг (50%), т. пл. 220–222° С. УФ, $\lambda_{\max}$, нм (ε): 260 (14 000).

б) Смесь 5 ммоль соединений (VIIa) или (VIIIa) и 20 мл насыщенного раствора аммиака в метаноле выдерживали 24 ч при 20° С и после стандартной обработки получали соответственно 610 мг (75%) и 625 мг (78%). Температура плавления и УФ-спектр совпадали с данными для соединения, полученного по методу «а».

1-(4-Гидрокси-2-бутин-1-ил)цитозин (IX) получен аналогично соединению (IXa) по способам «а» и «б». а) Получено 290 мг (40%) из 800 мг хлорпроизводного (VIв). Кристаллизовали из смеси метанол — этилацетат, 1 : 1, т. пл. 193—195° С, УФ, $\lambda_{\max}$, нм (ϵ): 272 (9600).

б) Получено 575 мг (80%) из 890 мг ацетильного производного (VIв) или 570 мг (78%) из 1,14 г бензоильного производного (VIIIв). Температура плавления и УФ-спектр совпадали с данными для соединения, полученного по методу «а».

1-(4-Гидрокси-2-бутин-1-ил)тимин (IXг) синтезировали аналогично (IXa) по способам «а» и «б». а) Получено 530 мг (63%) из 850 мг хлорпроизводного (VIг). Кристаллизовали из смеси метанол — этилацетат, 9 : 1, т. пл. 172—174° С, УФ, $\lambda_{\max}$, нм (ϵ): 259 (5900).

б) Получено 710 мг (83%) из 940 мг ацетильного производного (VIг) или 725 мг (85%) из 1,2 г бензоильного производного (VIIIг). Температура плавления и УФ-спектр совпадали с данными для соединения, полученного по методу «а».

Аденаillen (Ia). а) К раствору 2 ммоль гидроксibuтинового производного (IXa) в 15 мл абс. DMF при перемешивании при 20° С добавляли 336 мг (4 ммоль) свежевозогнанного Bu⁴OK, выдерживали 40 мин при той же температуре. Реакционную смесь нейтрализовали дауэксом 50W (H⁺-форма) и обрабатывали по стандартной методике. Вещество кристаллизовали 3 раза из смеси этилацетат — метанол, 1 : 1. Получено 183 мг (55%), т. пл. 190—191° С, УФ, $\lambda_{\max}$, нм (ϵ): 260 (14 000).

б) Промывали 32 мг гидроксида натрия (80%-ная суспензия в вазелиновом масле) 3 раза по 3 мл абс. пентана, добавляли 10 мл абс. DMSO и нагревали в атмосфере аргона 1 ч при 60—70° С, раствор охлаждали до 20° С. К раствору 2,5 ммоль вещества в 10 мл абс. DMSO добавляли 3,7 мл полученного раствора DMS-Na в DMSO и выдерживали при 20° С 10 мин, затем обрабатывали как указано выше. Выход 52%. Температура плавления и УФ-спектр совпадали с данными для соединения, полученного по методу «а».

Циталлен (Iв) получен аналогично соединению (Ia) по методам «а» и «б». а) Получено 184 мг (60%) исходя из 290 мг (IXв), кристаллизовали из метанола, т. пл. 184—188° С, УФ, $\lambda_{\max}$, нм (ϵ): 290 (11 300).

б) Получено 193 мг (65%) исходя из 290 мг (IXв), температура плавления и УФ-спектр совпадали с данными для соединения, полученного по методу «а».

Изучение кинетики процесса изомеризации. К раствору 0,05 ммоль вещества (IXa) добавляли 0,06—0,1 ммоль основания (общий объем раствора 2 мл), термостатировали при соответствующей температуре. Одинаковые пробы по 30 мкл отбирали через соответствующие промежутки времени, наносили на пластинки с силикагелем F₂₅₄ и хроматографировали в системе А, вещества элюировали 5 мл абс. метанола и измеряли оптическую плотность растворов при 260 нм. Соотношение компонентов (α) определяли с учетом значений коэффициентов молярного поглощения (ϵ) (см. табл. 1) по формуле

$$\alpha = \frac{A_{(I)}}{A_{(I)} + \frac{\epsilon_{(I)}}{\epsilon_{(IX)}} \cdot A_{(IX)}}.$$

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Harnden M. R., Bailey S., Boyd M. R. // Top. Med. Chem. Proc. 4th SCI—RSC Med. Chem. Symp. Cambridge, 6th — 9th. Sept. 1988. London, 1988. P. 213—244.
2. Hayashi S., Phadtare S., Zemlicka J., Matsukura M., Mitsuya H., Broder S. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1988. V. 85. № 16. P. 6127—6131.
3. Borcherdig D. R., Narayanan S., Hasobe M., McKee J. G., Keller B. T., Borchardt R. T. // J. Med. Chem. 1988. V. 31. № 15. P. 1729—1738.
4. Phadtare S., Zemlicka J. // J. Amer. Chem. Soc. 1989. V. 111. № 15. P. 5925—5931.
5. Хорлин А. А., Смирнов И. П., Кочеткова С. К., Цилевич Т. Л., Щавелева И. Л., Гонтмах Б. П., Флорентьева В. Л. // Биоорган. химия. 1989. Т. 15. № 4. С. 530—532.

6. Albert B. H. // *Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry* / Eds Zorbach W. W., Tipson E. D. New York, London: Interscience, 1973. P. 47—125.
7. Phadtare S., Zemlicka J. // *J. Org. Chem.* 1989. V. 54. № 15. P. 3675—3679.
8. Табер А. М., Мушина Е. А., Кренцель Б. А. Алленовые углеводороды: получение, свойства, применение. М.: Наука, 1987. С. 30—31.
9. Эммануэль Н. М., Кнорре Д. Г. Курс химической кинетики. М.: Высш. школа, 1974. С. 142—143.

Поступила в редакцию
20.XI.1990

A. V. TSYTOVICH, M. V. KOCHETKOVA, E. V. KUZNETSOVA, B. I. MITSNER,
V. I. SHVETS

ACYCLIC NUCLEOSIDE ANALOGS. I. DEVELOPMENT OF ALLENIC NUCLEOSIDE DERIVATIVE'S SYNTHESIS

M. V. Lomonosov Institute of Fine Chemical Technology, Moscow

A modified scheme for the adenallene and cytallene synthesis with the total yield of 30—35% is suggested. 1-Benzoyloxy-4-bromo-2-butyne is used as an alkylating agent. Methods of the acetylene-allene transition of hydroxybutynic derivatives of nucleic acid bases in the presence of potassium *tert*-butylate or sodium dimethylate are investigated.