



УДК 547.455.522'854.057:578.825.11

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ 5-(ТРИАЛКИЛСИЛИЛ) ПИРИМИДИНОВЫХ
НУКЛЕОЗИДОВ. НОВЫЙ α -2'-ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИД
С АНТИГЕРПЕТИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТЬЮ

Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Миникер Т. Д.,
Ярцева И. В., Преображенская М. Н., Загуляева О. А.*,
Мамаев В. П.*, Чекунова Э. В.***, Маренникова С. С.**

Всесоюзный онкологический научный центр Академии медицинских наук СССР,
Москва;

* Новосибирский институт органической химии Сибирского отделения
Академии наук СССР;

** Московский научно-исследовательский институт вирусных препаратов
Министерства здравоохранения СССР

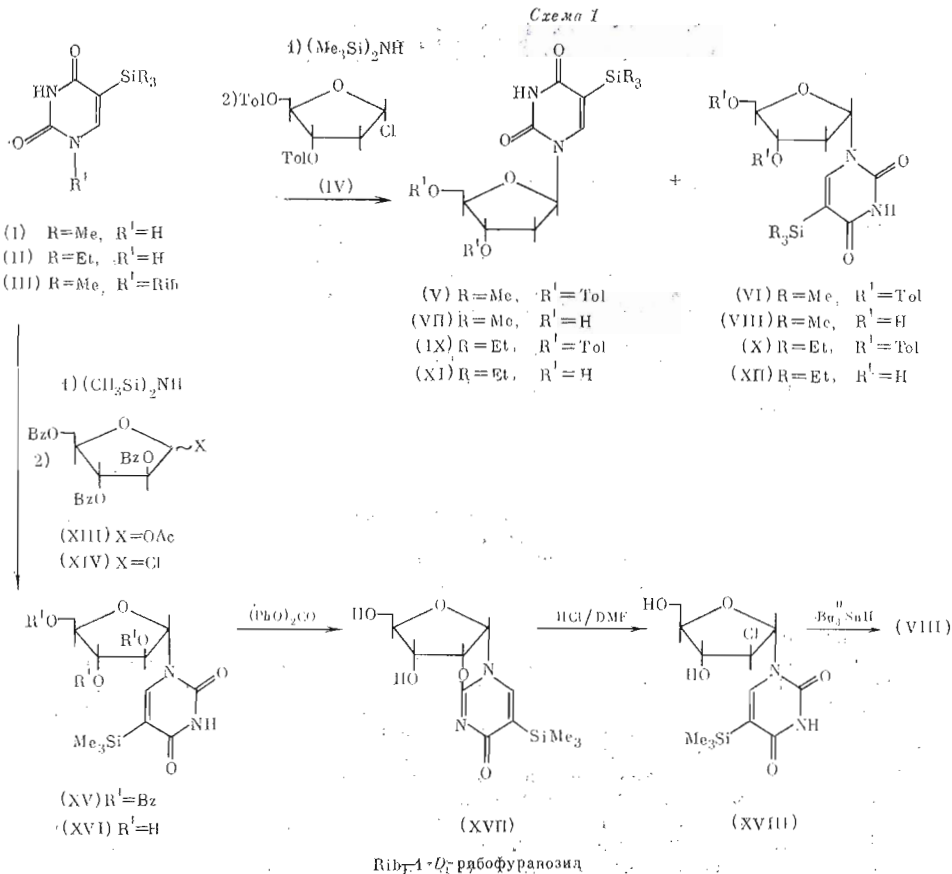
Гликозилированием 5-триметилсилил- и 5-триэтилсилилурацила, а также 5-триметилсилилцитозина 2-дезоксидеокси-3,5-ди-*O*-*n*-толуил- α -*D*-рибофуранозилхлоридом синтезированы индивидуальные α - и β -аномеры 5-триметилсилил-, 5-триэтилсилил-2'-дезоксидеоксиуридина и 5-триметилсилил-2'-дезоксидеокситидина. Взаимодействием 5-триметилсилилурацила с производными 2,3,5-три-*O*-бензоил-*D*-арабинофуранозы с последующим дезацилированием получен 1- α -*D*-арабинофуранозил-5-триметилсилилурацил. Осуществлены последовательные превращения этого соединения в 1-(2,2'-ангидро- α -*D*-рибофуранозил)-5-триметилсилилурацил, 1-(2-дезоксидеокси-2-хлор- α -*D*-арабинофуранозил)-5-триметилсилилурацил и 1-(2-дезоксидеокси- α -*D*-рибофуранозил)-5-триметилсилилурацил. Последний активен в отношении вируса простого герпеса HSV-1 *in vitro* и *in vivo* и обладает выраженным лечебным действием при герпесе гениталий у морских свинок, вызванном вирусом HSV-2.

При изучении 5-замещенных 2'-дезоксидеоксиуридинов в качестве потенциальных антиметаболитов тимидина нами было обнаружено, что ряд α -аномеров с разветвленным заместителем в пятом положении пириимидинового кольца обладает противовирусными свойствами [1-3]. Среди активных нуклеозидов наибольший интерес представляет 1-(2-дезоксидеокси- α -*D*-рибофуранозил)-5-триметилсилилурацил (VIII) [1]. В настоящем сообщении описан синтез этого соединения, его противовирусная активность *in vivo*, а также синтезы некоторых других пириимидиновых нуклеозидов с 5-триалкилсилильным заместителем.

5-Триметилсилилурацил (I) и 5-триметилсилилуридин (III) синтезированы ранее двумя авторами данного сообщения последовательным взаимодействием 2,4-дибензилокси-5-бромпириимидина или триметилсилильного производного 5-бромуридина с *n*-бутиллитием и триметилхлорсиланом [4].

Аналогично с использованием триэтилхлорсилана получен 5-триэтилсилилурацил (II) (схема 1). Урацилы (I) и (II) действием гексаметилдисилазана превращали в бис-*O*-триметилсилильные производные, которые гликозилировали 2-дезоксидеокси-3,5-ди-*O*-*n*-толуил- α -*D*-рибофуранозилхлоридом (IV) в дихлорэтаноле или ацетонитриле в присутствии SnCl₄. Образующую смесь β - и α -аномеров (V) и (VI) разделяли колоночной хроматографией на силикагеле, после чего каждый из аномеров дезацилировали в отдельности и получили β - и α -нуклеозиды (VII) и (VIII). В случае 5-триэтилсилилурацила (II) смесь *O*-защищенных аномерных нуклеозидов (IX) и (X) очищали хроматографией на пластинах с силикагелем от углеводных примесей и непрореагировавшего 5-триэтилсилилурацила (II), затем дезацилировали 0,1 н. раствором метилата натрия в метаноле, после чего разделяли на индивидуальные аномеры (XI) и (XII). Независимо от

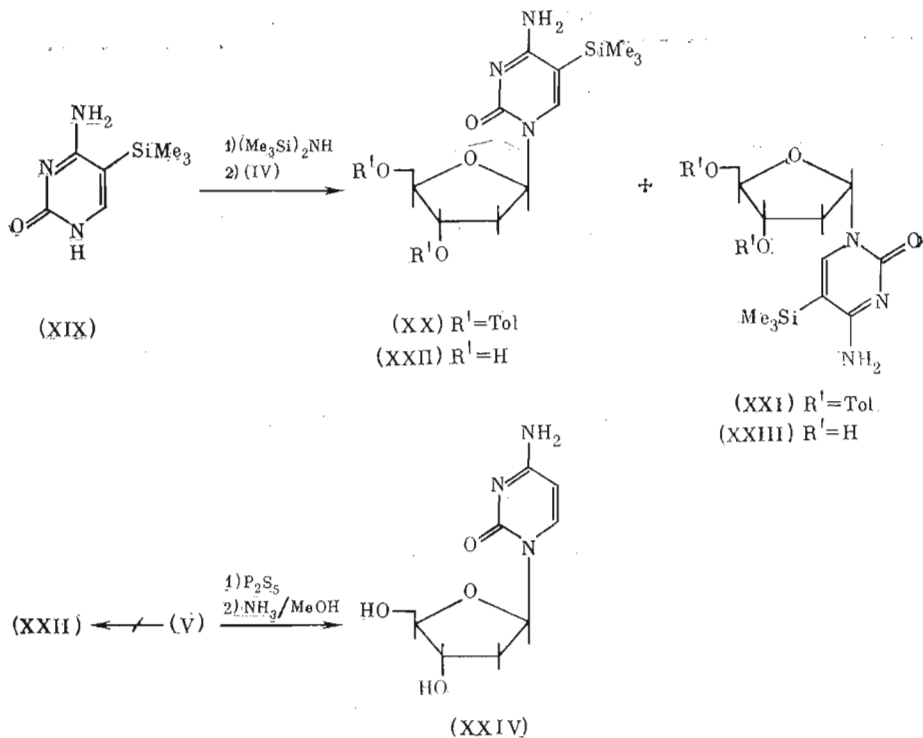
Сокращения: DMSO – диметилсульфоксид, Tol – *n* – толуил, ВЭЖХ – высокоэффективная жидкостная хроматография.



нас 5-триметилсилил-2'-дезоксинуридин (VII) был синтезирован из 5-бром-2'-дезоксинуридина [5], а также выделен в качестве побочного соединения и описан в работе [6].

Сплавлением бис-О-(триметилсилил)-5-триметилсилилурацила с 1-О-ацетил-2,3,5-три-О-бензоил-*D*-арабинофуранозой (XIII) [7] при 190°C в присутствии $SnCl_4$ в течение 20 мин синтезировали 1-(2,3,5-три-О-бензоил- α -*D*-арабинофуранозил)-5-триметилсилилурацил (XV) с выходом 29%. То же соединение получали конденсацией бис-О-(триметилсилил)-5-триметилсилилурацила с 2,3,5-три-О-бензоил- α -*D*-арабинофуранозилхлоридом в ацетонитриле при 20°C с выходом 66%. Соединение (XV) дебензоилировали 0,1 н. метилатом натрия в метаноле и выделяли 1- α -*D*-арабинофуранозил-5-триметилсилилурацил (XVI).

Имея индивидуальные ацилированные аномеры 5-триметилсилил-2'-дезоксинуридина (V) и (VI), мы считали целесообразным превратить их в соответствующие 2'-дезоксцитидины по известной методике [8]. С этой целью соединение (V) обрабатывали пентасерпистым фосфором в диоксане при кипячении, затем газообразным аммиаком в метаноле при 100°C. Однако в процессе реакции произошло отщепление триметилсилильной группы и был выделен лишь 2'-дезоксцитидин (XXIV) (схема 2). Используя метод получения цитидинов из уридинов путем образования 4-хлорпиримидинов с последующим аммонолизом [9], мы действовали на соединение (V) хлористым тионилем в хлороформе, а также в четыреххлористом углероде. Реакция протекала неоднозначно, и выделить 4-хлорпроизводное нам не удалось. Показана возможность перехода от уридина к цитидину в мягких условиях путем аммонолиза 4-(1,2,4-триазол-1-ил)производного пуклеозида [10, 11]. Однако в нашем случае соединение (V) не реагировало с 1,2,4-триазолом ни в пиридине в присутствии фенилфосфодихлорида, ни в ацетонитриле в присутствии хлорокси фосфора и триэтиламина. По-видимому, низкая реакционная способность



4-СО-группы в соединении (V) связана со стерическими затруднениями, вызываемыми объемным 5-триметилсилильным заместителем.

В итоге для получения 5-триметилсилилил-2'-дезоксидина мы остановились на способе гликозилирования уже готового нуклеинового основания. 5-Триметилсилилцитозин (XIX) синтезировали из 5-бром-N,O-бис(триметилсилил)цитозина последовательным действием *n*-бутиллития и триметилхлорсилана в тетрагидрофуране. Конденсацией N,O-бис(триметилсилил)-5-триметилсилилцитозина, полученного из него обычным способом, с ацилгалогенозой (IV), как и в случае 5-триметилсилил урацила (I), получали смесь аномерных O-защищенных нуклеозидов (XX) и (XXI), которую выделяли хроматографией на пластинках с силикагелем с выходом 38%. Метанолизом удаляли *n*-толуильную защиту, после чего смесь α - и β -аномеров обрабатывали водой и отделяли хроматографически однородный 1-(2-деокси- β -D-рибофуранозил)-5-триметилсилилцитозин (XXII) с выходом 50%. Из фильтрата после упаривания получали 24% α -аномера (XXIII) с примесью 16% β -аномера (XXII) (по данным ПМР). Попытки отделить примесь β -аномера хроматографией на пластинках с силикагелем с использованием различных систем растворителей при многократном хроматографировании не привели к желаемому результату.

Оптимальным методом получения индивидуальных аномеров 2'-дезоксинуклеозидов, по-видимому, следует считать направленный синтез соединений с требуемой конфигурацией при C1'-атоме. Усилия различных групп исследователей привели к тому, что в настоящее время имеется ряд удобных методов синтеза β -дезоксинуклеозидов из соответствующих рибопроизводных [12–14], предложены также методики $\alpha \rightarrow \beta$ -эпимеризации (см., например, [15]). Способы получения α -дезоксирибонуклеозидов изучены мало [16, 17]. Объясняется это, по-видимому, тем, что до недавнего времени в качестве потенциальных антимаболитов рассматривались лишь нуклеозиды с природной β -конфигурацией гликозидной связи. Ранее мы описали синтез α -аномеров 2'-деоксиуридина и тимидина, исходя из соответствующих α -D-арабинозидов [18]. В настоящем исследовании этот метод был использован нами для синтеза нуклеозидов (VIII). С этой целью α -D-арабинозид (XVI) обрабатывали дифенил-

Характеристики синтезированных соединений

Соединение	Найдено, %			Формула
	С	Н	Н	
(II)	53,72	8,02	12,04	$C_{16}H_{18}N_2O_2Si$
(VII) *	47,20	6,59	9,48	$C_{12}H_{20}N_2O_5Si \cdot 1/3 H_2O$
(VIII) *	46,60	6,50	9,14	$C_{12}H_{20}N_2O_5Si \cdot 1/3 H_2O$
(XI) *	51,32	7,63	8,30	$C_{15}H_{26}N_2O_5Si \cdot 1/2 H_2O$
(XII) *	50,46	7,48	8,01	$C_{15}H_{26}N_2O_5Si \cdot H_2O$
(XV) *	61,83	4,97	5,49	$C_{33}H_{32}N_2O_9Si \cdot 1/2 H_2O$
(XVI) *	44,91	6,65	—	$C_{12}H_{20}N_2O_6Si \cdot 1/2 H_2O$
(XVIII) **	41,81	5,87	8,31	$C_{12}H_{18}ClN_2O_5Si \cdot 1/2 H_2O$
(XIX)	45,80	7,21	23,20	$C_7H_{13}N_3OSi$
(XXII)	46,59	6,87	14,32	$C_{12}H_{21}N_3O_4Si \cdot 1/2 H_2O$
(XXIII)	46,56	6,60	13,47	$C_{12}H_{21}N_3O_4Si \cdot 1/2 H_2O$

Соединение	Вычислено, %			УФ-спектр		КД-спектр	
	С	Н	Н	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	ϵ	$\lambda_{\text{экстр}}$, нм	$[\theta]$
(II)	53,10	8,00	12,40	—	—	—	—
(VII) *	47,03	6,80	9,14	265	9 100	273	+9000
(VIII) *	47,03	6,80	9,14	265	10 000	271	-7000
(XI) *	51,25	7,74	7,97	266	10 000	273	+3900
(XII) *	49,98	7,82	7,77	266	10 000	271	-7900
(XV) *	62,15	5,22	4,39	234, 265	45 000, 13 000	—	—
(XVI) *	44,29	6,20	—	265	10 800	272	-4900
(XVIII) **	41,91	5,86	8,15	266	10 600	271	-5500
(XIX)	45,90	7,15	22,90	—	—	—	—
(XXII)	46,73	6,86	13,62	276	6900	275, 275	+9000, +5600 ***
(XXIII)	46,73	6,86	13,62	277	7200	—	—

* Найдено, %: Si 8,97 (VII); 8,98 (VIII); 8,23 (XI); 8,22 (XII); 4,22 (XV); 8,58 (XVI).
Вычислено, %: Si 9,17 (VII), (VIII); 7,42 (XI); 7,79 (XII); 4,40 (XV); 8,60 (XVI).

** Найдено, %: Cl 9,88. Вычислено, %: Cl 10,32.

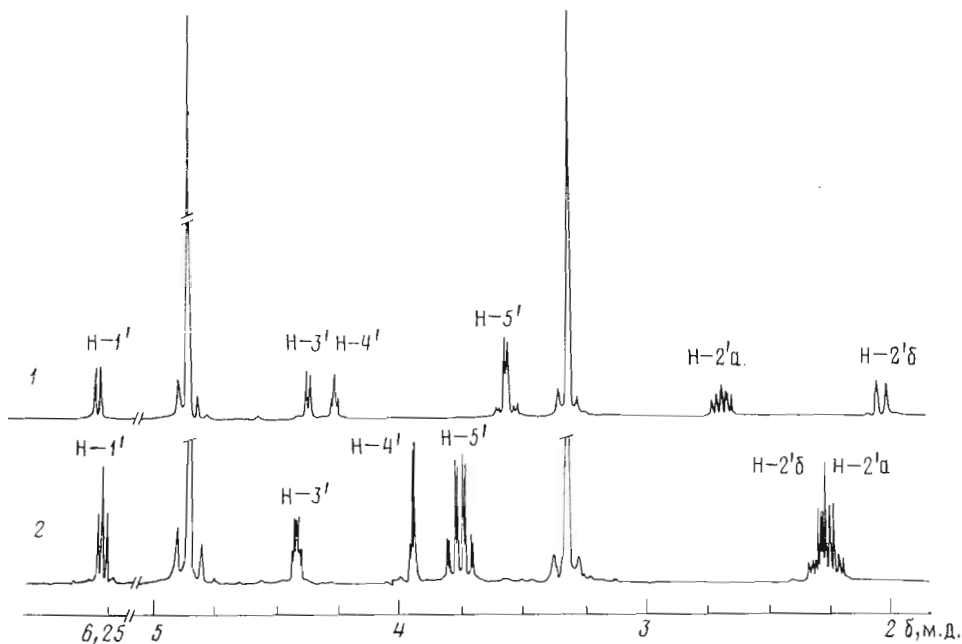
*** Спектр снят в H_2O .

Таблица 2

Спектры ПМР синтезированных соединений в CD_3OD

Соединение	δ , м. д.								Другие протоны
	H-6	H-1'	H-2'a	H-2'б	H-3'	H-4'	H-5'a	H-5'б	
(VII)	7,88	6,30	2,22	2,29	4,40	3,33	3,77	3,72	0,21 (CH_3-Si)
(VIII)	7,93	6,27	2,68	2,02	4,36	4,26	3,58	3,54	0,21 (CH_3-Si)
(XI)	7,86	6,31	2,19	2,29	4,40	3,95	3,76	3,72	0,77 (CH_2-Si), 0,95 (CH_3CH_2-Si)
(XII)	7,88	6,25	2,67	2,02	4,36	4,26	3,58	3,55	0,77 (CH_2-Si), 0,96 (CH_3CH_2-Si)
(XXII)	7,98	6,28	2,15	2,37	4,37	3,96	3,78	3,71	0,33 (CH_3-Si)
(XXIII)	8,01	6,25	2,67	2,08	4,35	4,29	3,79	3,73	0,33 (CH_3-Si)
(XXIV)	7,94	6,22	2,10	2,33	4,35	3,90	3,75	3,70	

Соединение	J, Гц								
	1'2'a	1'2'б	2'a2'б	2'a3'	2'б3'	3'4'	4'5'a	4'5'б	5'a5'б
(VII)	7,3	6,7	13,5	6,0	3,4	3,4	3,1	3,2	11,8
(VIII)	7,8	2,1	14,5	6,1	1,4	1,4	4,5	4,15	15,0
(XI)	7,3	6,2	13,5	6,0	3,2	3,0	3,2	3,2	11,5
(XII)	7,6	1,9	14,9	6,0	1,4	1,4	4,6	4,4	13,4
(XXII)	6,4	6,2	13,5	6,4	3,7	3,5	3,2	3,5	11,4
(XXIII)	7,4	1,7	14,5	6,0	1,4	1,4			
(XXIV)	6,5	6,5	13,3	6,2	3,7	3,5	3,3	3,9	11,9



Спектры ПМР (область сигналов углеводных протонов) аномерных 5-триметилсилил-2'-дезоксинуридин (в CD_3OD): 1 — α -аномер (VIII), 2 — β -аномер (VII)

карбонатом в диметилформамиде при 150°C с образованием 2,2'-ангидропроизводного (XVII) (схема 1). О ходе превращения судили по гипсохромному сдвигу максимума поглощения в УФ-спектре ($\lambda_{\text{макс}}$ 250 нм). Полученный ангидронуклеозид (XVII) обрабатывали 1 М раствором газообразного хлористого водорода в диметилформамиде при 100°C и хроматографией на пластинах с силикагелем выделяли 1-(2-дезоксис-2-хлор- α -D-арабинофуранозил)-5-триметилсилил урацил (XVIII). Восстановление этого соединения гидридом три-*n*-бутилолова в бензоле в присутствии азодиизобутиронитрила привело к 1-(2-дезоксис- α -D-рибофуранозил)-5-триметилсилил урацилу (VIII), по данным ТСХ и спектра ПМР идентичному полученному ранее соединению.

Характеристики синтезированных соединений приведены в табл. 1 и 2. Положение остатка углевода при атоме азота N1 в полученных нуклеозидах доказано сохранением максимума поглощения в УФ-спектрах при переходе от pH 7 к pH 11. Отнесение конфигурации гликозидного центра в соединениях (VII), (VIII), (XI), (XII), (XVI) и (XXII) согласуется с наличием в спектрах КД отрицательного экстремума для α -аномеров (VIII), (XII), (XVI) и положительного — для β -аномеров (VII), (XI), (XXII). В пользу арабино-конфигурации при атоме C-2' в соединении (XVIII) свидетельствуют данные спектра ПМР: смещение сигнала протона H-2' в слабое поле по сравнению с соответствующим сигналом арабинозида (XVI) [18]. При сопоставлении спектров ПМР α - и β -аномеров выявляется ряд различий (см. рисунок)*. Протоны H-1' различаются по форме сигнала: дублет дублетов с $J_{1'2'a}^* \sim 7$ Гц и $J_{1'2'b}^* \sim 2$ Гц для α -аномеров и псевдотриплет с близкими значениями констант $J_{1'2'a}$ и $J_{1'2'b}$ (~ 7 Гц) для β -аномеров. Характерным для спектров α -нуклеозидов является смещение в слабое поле на $\sim 0,5$ м.д. сигнала H-2'a и на $\sim 0,3$ м.д. сигнала H-4', что, по-видимому, связано с дезэкранирующим влиянием агликона; для протона H-2'b, экранированного гидроксильной группой при C-3' и *цис*-расположенным агликоном, химический сдвиг на $\sim 0,3$ м.д. меньше, чем у соответствующих β -аномеров. Отмеченные особенности позволяют получить информацию о конфигурации аномерного центра в

* Обозначения H-2'a и H-2'b для 2'-дезоксинуклеозидов соответствуют протонам, занимающим *pro-S*- и *pro-R*-положения, т. е., согласно рекомендациям IUPAC, протонам H-2'1 и H-2'2 соответственно.

Действие нуклеозида (VIII) и АСГ при экспериментальном герпесе гениталий у морских свинок, вызванном HSV-2

Препарат	Концентрация препарата в мази, %	Эффект химиотерапии *	Лечебный эффект в баллах по [25, 26]
(VIII)	3	$\frac{5}{5}$	53
АСГ	3	$\frac{5}{5}$	70
Контроль	Плацебо	$\frac{0}{5}$	0

* Количество животных с выраженным лечебным эффектом по отношению к общему количеству животных в группе.

2'-дезоксинуклеозидах, если протоны Н-1' в аномерах имеют близкие значения химических сдвигов, как в нашем случае, а также если их сигналы не различаются по форме (ср., например, [19]).

При изучении противовирусных свойств соединений (I), (III), (VII), (VIII), (XI), (XII), (XXII), (XXIII) на культуре клеток фибробластов куриных эмбрионов, инфицированных вирусом герпеса HSV-1 и осповакцины, активность была найдена лишь у нуклеозида (VIII). При переходе от 5-замещенных 2'-дезоксинуридинов, обладающих противовирусным действием, к соответствующим 2'-дезоксцитидинам противовирусные свойства обычно сохраняются [20]. Это объясняется тем, что 5-замещенные 2'-дезоксцитидины, помимо взаимодействия в виде моно-, ди- и трифосфатов с ферментами обмена дезоксицитидина, могут дезаминироваться цитидиндезаминазой на уровне нуклеозида или нуклеотида с образованием активных 5-замещенных 2'-дезоксинуридинов. Отсутствие потивовирусной активности у 1-(2-деокси- α -D-рибофуранозил)-5-триметилсиллилцитозина (XXIII), вероятно, связано с тем, что он, как и α -аномер 5-этил-2'-дезоксцитидина, не дезаминируется под действием цитидиндезаминазы [21].

Нуклеозид (VIII) обладает выраженной активностью в отношении вируса HSV-1 *in vitro* в культуре клеток фибробластов куриных эмбрионов и *in vivo* при герпетическом кератите у кроликов [4]. Эффективен он и при системном применении при экспериментальном герпетическом энцефалите хлопковых крыс: введение препарата в дозе 400 мг/кг через 1 ч после заражения и затем однократно в течение четырех дней предотвращает гибель 35% животных. Активность производного (VIII) в отношении вируса HSV-2 и осповакцины *in vitro* по сравнению с HSV-1 менее выражена. Однако в опытах *in vivo* при экспериментальном герпесе гениталий у морских свинок, вызванном HSV-2, соединение (VIII) оказывает выраженное лечебное действие, хотя и уступает по эффективности 9-(2-окситоксиметил)гуанину (АСГ) — наиболее активному из известных препаратов в отношении этого типа вируса [22] (табл. 3).

Нуклеозид (VIII) обладает чрезвычайно низкой токсичностью для нормальных клеток: 50% токсическая концентрация для культуры фибробластов куриных эмбрионов составляет 2000 мкг/мл. Для мышей линии F₁ LD₅₀ при однократном внутрибрюшинном введении составляет 1—2 г/кг.

Сопоставление данных по воздействию соединения (VIII) на нормальные и инфицированные клетки, а также факт снятия его противовирусного эффекта тимидином [4] позволяют предположить, что в метаболизме нуклеозида (VIII), как и большинства противовирусных антиметаболитов, принимают участие специфические кодируемые вирусом ферменты, прежде всего тимидинкиназа.

α -Аномер (VIII) не расщепляется под действием тимидин- и уридинфосфорилазы, выделенных из тканей человека и мыши. Это способствует повышению его метаболической устойчивости *in vivo* и выгодно отличает от многих известных антигерпетических нуклеозидов.

Таким образом, несмотря на то что эффективная противовирусная концентрация *in vitro* для нуклеозида (VIII) (60 мкг/мл) значительно

выше, чем у наиболее активных антигерпетических препаратов, например (E)-5-(2-бромвинил)-2'-дезоксигуанидина [23], in vivo вследствие большей метаболической стабильности нуклеозида (VIII) происходит «выравнивание» эффективных концентраций и производное (VIII) проявляет выраженную противовирусную активность.

Экспериментальная часть

Спектры ПМР, приведенные в табл. 2, записаны на приборе Bruker WH-360 (ФРГ), для соединений (XV), (XVI), (XVIII) и (XIX) — на приборе JNM-MH-100 (Япония), внутренний стандарт — тетраметилсилан. УФ-спектры получены на регистрирующем спектрофотометре Unicam SP-800 (Англия), длина оптического пути 1 см, растворитель — спирт. Измерения кругового дихроизма проведены на дихрографе Roussel-Jouan III (Франция) в спирте в кювете с длиной оптического пути 1 см. ВЭЖХ проводили как описано в работе [2]. Для ТСХ использовали силуфол UV₂₅₄ (Kavalier, ЧССР), препаративную ТСХ проводили на пластинках (20×20 см) фирмы Мерск (ФРГ) с закрепленным слоем силикагеля 60 F₂₅₄, толщина слоя 2 мм. Для колоночной хроматографии использовали силикагель L 40—100 мкм (Chemapol, ЧССР).

Аномерные 5-триметилсилил-2'-дезоксигуанидины (VII) и (VIII). Смесь, состоящую из 20 г (108,6 ммоль) 5-триметилсилилгуанидина (I) [4], 20 мг сульфата аммония и 60 мл гексаметилдисульфата, кипятили 14 ч, избыток гексаметилдисульфата отгоняли в вакууме, остаток растворяли в 100 мл безводного дихлорэтана и прибавляли к суспензии 35 г (90,4 ммоль) 2-дезоксидихлорэтана и 1,6 мл (13,4 ммоль) SnCl₄ в 10 мл того же растворителя. Реакционную смесь перемешивали 4 ч при 20—22° С, затем промывали последовательно раствором NaHCO₃ (2×40 мл) и водой. После отгонки растворителя в вакууме остаток (29,5 г) наносили на колонку с 1,4 кг силикагеля и смесью бензол — этилацетат (5:1) вымывали углеводные примеси и 14,8 г (25%) 1-(2-дезоксидихлор-3,5-ди-О-п-толуил-β-D-рибофуранозил)-5-триметилсилилгуанидина (V). Затем смесью бензол — этилацетат (7:3) вымывали 9,8 г (16,8%) 1-(2-дезоксидихлор-3,5-ди-О-п-толуил-α-D-рибофуранозил)-5-триметилсилилгуанидина (VI). К раствору 9,8 г (18,3 ммоль) соединения (VI) в 200 мл 0,1 н. метилата натрия в метаноле через 4 ч при 20—22° С прибавляли дауэкс 50 (H⁺) до pH 7 по универсальному индикатору. Смолу отделяли, растворитель отгоняли в вакууме, остаток растворяли в 50 мл воды и промывали петролейным эфиром (2×10 мл). После упаривания в вакууме и высушивания над P₂O₅ получали 4,9 г (90,7%) 1-(2-дезоксидихлор-α-D-рибофуранозил)-5-триметилсилилгуанидина (VIII). По данным ВЭЖХ, примесь β-аномера (VII) в соединении (VIII) составила 1,33%.

В аналогичных условиях дезацилированием нуклеозида (V) получали 1-(2-дезоксидихлор-β-D-рибофуранозил)-5-триметилсилилгуанидин (VII) с выходом 90%.

1 - (2,3,5 - Три-О-бензоил-α-D-арабинофуранозил)-5 - триметилсилилгуанидин (XV).

А. К триметилсилильному производному, полученному из 1,62 г (8,8 ммоль) 5-триметилсилилгуанидина (I), прибавляли 4,0 г (7,9 ммоль) 1-О-ацетил-2,3,5-три-О-бензоил-α-D-арабинофуранозид (XIII), 0,08 мл (0,67 ммоль) SnCl₄ и сплавили 20 мин при ~190° С. После охлаждения реакционную смесь растворяли в 20 мл дихлорэтана, промывали последовательно раствором NaHCO₃ (2×10 мл) и водой. Полученный после упаривания растворителя густой сироп (4,1 г) хроматографировали на пластинках в системе хлороформ — метанол (10:1). Получали 1,62 г (29,3%) 1 - (2,3,5 - три-О-бензоил-α-D-арабинофуранозил)-5-триметилсилилгуанидина (XV). Спектр ПМР (CDCl₃), δ, м.д.: 6,21 (H-1', J_{1,2'} 3,0 Гц), 6,01 (H-2', J_{2,3'} 3,8 Гц), 5,75 (H-3', J_{3,4'} 3,4 Гц), 4,97 (H-4'), 4,70 (2H-5'), 0,15 (CH₃—Si).

Б. Смесь, состоящую из 3,2 г (17,4 ммоль) соединения (I), 16 мл гексаметилдисилазана и 20 мг сульфата аммония, кипятили 10 ч, избыток силилирующего реагента отгоняли в вакууме. К остатку прибавляли раствор 6,84 г (14,2 ммоль) 2,3,5-три-*O*-бензоил- α -*D*-арабинофуранозилхлорида (XIV) в 80 мл ацетонитрила и перемешивали 17 ч при 20° С. Реакционную смесь фильтровали, растворитель отгоняли в вакууме, остаток растворяли в хлороформе, промывали последовательно раствором NaHCO₃ (2×40 мл), водой, встряхивали с небольшим количеством силикагеля, фильтровали. После отгонки хлороформа в вакууме получали 7,16 г (65,6%) хроматографически однородного соединения (XV).

1- α -D-Арабинофуранозил-5-триметилсилилурацил (XVI). Растворяли 1,62 г защищенного арабинозида (XV) в 35 мл 0,1 н. раствора метилата натрия в метаноле, через 2,5 ч реакционную смесь обрабатывали дауэксом 50 (H⁺) до pH 7 по универсальному индикатору, смолу отделяли, промывали метанолом, объединенные фильтраты упаривали в вакууме. Остаток (0,66 г) хроматографировали на пластинах с силикагелем в системе этилацетат — метанол (10 : 1), получали 0,55 г (70%) α -арабинозида (XVI). Спектр ПМР (CD₃OD), δ , м.д.: 7,62 (H-6), 5,89 (H-1', J_{1,2'} < 2,5 Гц), 4,23 (H-2', H-3'), 4,14 (H-4'), 3,72 (2H-5').

5-Триэтилсилилурацил (II) получали по методике, описанной для соединения (I) в работе [4]. Т. пл. 267–268° С (этанол). *m/z* 226 (M⁺). Спектр ПМР (CH₂Cl₂), δ , м.д.: 10,3; 6,65; 0,40.

Аномерные 5-триэтилсилил-2'-дезоксигуридины (XI) и (XII) получали исходя из 2 г триэтилсилилурацила (II), как описано в методике синтеза аномеров (VII) и (VIII). После отгонки растворителя остаток очищали хроматографией на пластинах в системе хлороформ — метанол (20 : 1). Получали 1,9 г (37,3%) ацилированного 5-триэтилсилил-2'-дезоксигуридина в виде смеси аномеров (IX) и (X), которую растворяли в 40 мл 0,1 н. метилата натрия в метаноле и выдерживали 2 ч при 20–22° С. После обычной обработки и упаривания растворителя остаток (1,3 г) разделяли хроматографией на пластинах в системе этилацетат — метанол (20 : 1). Из верхней зоны выделяли 0,43 г (38,1%) 1-(2-дезоксигуридин-5-триэтилсилилурацила (XI), из нижней зоны — 0,23 г (20,6%) 1-(2-дезоксигуридин-5-триэтилсилилурацила (XII).

1-(2-Дезокси-2-хлор- α -D-арабинофуранозил) - 5 - триметилсилилурацил (XVIII). Смесь, состоящую из 2,0 г (6,32 ммоль) арабинозида (XVI), 1,82 г (8,5 ммоль) дифенилкарбоната и 0,12 г NaHCO₃ в 60 мл диметилформамида, нагревали 40 мин при 150° С. После охлаждения растворитель отгоняли в вакууме, остаток растирали с эфиром (3×100 мл), получали 1,9 г 1-(2,2'-ангидро- α -*D*-рибофуранозил)-5-триметилсилилурацила (XVII) в виде аморфного светло-коричневого порошка. Раствор соединения (XVII) в 64 мл 1 М раствора хлористого водорода в диметилформамиде нагревали 1 ч при 100° С, по охлаждению выливали в воду, экстрагировали хлороформом. Растворитель упаривали в вакууме, остаток очищали хроматографией на пластинах в системе этилацетат — спирт (4 : 1). Получали 0,94 г (44,3%) 1-(2-дезоксигуридин-5-триэтилсилилурацила (XVIII). Спектр ПМР (CD₃OD), δ , м.д.: 7,48 (H-6), 6,03 (H-1', J_{1,2'} 4,6 Гц), 4,55 (H-2', J_{2,3'} < 5 Гц), 4,35 (H-3'), 4,29 (H-4'), 3,72 (2H-5'), 0,21 (CH₃-Si).

1-(2-Дезокси- α -D-рибофуранозил)-5-триметилсилилурацил (VIII). Смесь 0,94 г (2,8 ммоль) соединения (XVIII), 2,67 г гидроксида три-*n*-бутилола и 0,01 г азодивобутиронитрила в 17 мл бензола кипятили 6 ч. Растворитель упаривали в вакууме, остаток растворяли в воде, раствор экстрагировали эфиром, после упаривания воды хроматографией на пластинах в системе этилацетат — метанол (9 : 1) выделяли 0,38 г (45%) соединения (VIII).

2'-Дезоксицитидин (XXIV). К раствору 1 г (1,87 ммоль) соединения (V) в 50 мл диоксиана прибавляли 1 г P₂S₅ и нагревали при кипении 1,5 ч. Реакционную смесь охлаждали, фильтровали, упаривали досуха. Остаток обрабатывали 20 мл воды при 60° С, по охлаждении экстрагировали хлороформом (3×20 мл). Объединенные экстракты промывали последовательно

5% NaHCO_3 , водой, растворитель отгоняли, остаток сушили в вакууме над P_2O_5 . Получали 1,14 г 4-тиопроизводного ($\lambda_{\text{макс}}$ 329 нм), которое растворяли в 30 мл метанола, насыщенного при 0° С аммиаком, и нагревали 17 ч при 95–100° С. После охлаждения реакционную смесь фильтровали, растворитель отгоняли в вакууме, остаток очищали хроматографией на пластинах в системе этилацетат – метанол (1 : 1), получали 0,25 г (59,5%) 2'-дезоксидитидина (XXIV), по данным ТСХ и УФ-спектра идентичного заведомому образцу. Данные спектра ПМР см. табл. 2.

5-Триметилсилилцитозин (XIX). К раствору 14 г (0,055 моль) 5-бром-N,O-бис-(триметилсилил)цитозина [24] в 500 мл абсолютного тетрагидрофурана при –90÷–80° С прибавляли в течение 1 ч 55 мл (0,14 ммоль) 2,6 н. раствора *n*-бутиллития в гексане. После этого реакционную смесь выдерживали 1 ч при –90° С, затем при этой же температуре в течение 30 мин прибавляли 16,5 мл (0,13 моль) триметилхлорсилана, перемешивали 3 ч, после чего оставляли на 12 ч при ~20° С. Растворители отгоняли в вакууме, к желтому маслянистому остатку добавляли при охлаждении 20 мл воды, нейтрализовали уксусной кислотой, выпавший осадок отделяли, промывали водой, кристаллизовали из спирта. Получали 7 г (69%) 5-триметилсилилцитозина (XIX), т. пл. 240° С (разл.). Спектр ПМР (DMSO-d_6), δ , м.д.: 0,2 ($\text{Si}(\text{CH}_3)_3$), 7,2 (H-6).

Аномерные 5-триметилсилил-2'-дезоксидитидины (XXII) и (XXIII). К раствору триметилсилильного производного, полученного из 1,5 г (8,2 ммоль) соединения (XIX), в 8 мл безводного дихлорэтана прибавляли 2,5 г (6,4 ммоль) галогенозы (IV) и 0,25 мл (2,1 ммоль) SnCl_4 в 7 мл дихлорэтана. Реакционную смесь перемешивали 2 ч при 20–22° С, затем промывали последовательно насыщенным раствором NaHCO_3 , водой. Растворитель отгоняли в вакууме, остаток (3,2 г) хроматографировали на пластинах в системе хлороформ – метанол (20 : 1), выделяли 1,67 г (38%) смеси О-толуилпроизводных аномеров (XX) и (XXI). Смесь аномеров растворяли в 40 мл 0,1 н. раствора метилата натрия в метаноле, через 2 ч обрабатывали дауэксом 50 (H^+), смолу отделяли, промывали метанолом, объединенные фильтраты упаривали в вакууме. К остатку прибавляли 10 мл воды, отделяли 0,47 г (50%) 1-(2-дезоксид- β -D-рибофуранозил)-5-триметилсилилцитозина (XXII), т. пл. 187–188° С (метанол). Фильтрат после отделения β -аномера (XXII) экстрагировали петролейным эфиром (2×5 мл), растворитель упаривали, получали 0,22 г (24%) 1-(2-дезоксид- α -D-рибофуранозил)-5-триметилсилилцитозина (XXIII), содержащего 16% примеси β -аномера (XXII).

Опыт с экспериментальным герпетическим энцефалитом проводили на хлопковых крысах весом 50–60 г. Животных заражали под эфирным наркозом, вводя интрацеребрально $0,4 \cdot 10^4$ ЦПД₅₀* вируса простого герпеса HSV-1. Через 1 ч после заражения и далее однократно в течение 4 сут вводили препарат внутривентрикулярно в дозе 400 мг/кг в виде водного раствора. В качестве контроля использовали группу зараженных животных, не получавших препарат. Через 14 сут сопоставляли количество выживших животных с контролем (100% смертность) и определяли процент выживаемости. Генитальный герпес HSV-2 моделировали на морских свинках весом 300 г. В опытах использовали 3% мазь нуклеозида (VIII), а также 3% мазь АСГ фирмы Wellcome (США). Лечение начинали через 1 ч после заражения, нанося мазь на зараженную область дважды в день в течение 4 сут. Контрольная группа животных получала плацебо. Наблюдение за животными проводили в течение 6 сут, учитывая по четырехбалльной системе площадь, интенсивность поражения, кровоточивость и наличие язв. Для оценки эффективности препаратов использовали рекомендации, приведенные в работах [25, 26] (табл. 3).

* ЦПД – цитопатическая доза.

ЛИТЕРАТУРА

1. А. с. № 671287 (СССР). 1- α и β -Дезокси-*D*-рибофуранозиды 5-триметилсилилурацила, проявляющие противовирусную активность/Преображенская М. Н., Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Межевич З. М., Мамаев В. П., Загуляева О. А., Бектемиров Т. А., Чекунова Э. В., Анджапаридзе О. Г., Поздняков В. И., Майчук Ю. Ф., Щипанова А. И. Заявл. 12.01.78, № 2568453. Оpubл. в Б. И., 1983, № 32.
2. Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Недорезова Т. П., Ворновицкая Г. И., Преображенская М. Н., Аветисян Э. А., Герман Л. С., Полищук В. Р., Чекунова Э. В., Бектемиров Т. А., Анджапаридзе О. Г. Биоорг. химия, 1981, т. 7, № 7, с. 1047-1053.
3. Melnik S. Y., Bakhmedova A. A., Miniker T. D., Preobrazhenskaya M. N., Zagulyaeva O. A., Mamaev V. P. Nucl. Acids Res., Symp. Ser., 1981, № 9, p. 53-55.
4. Загуляева О. А., Скорородова Л. В., Мамаев В. П. Изв. СО АН СССР. Сер. хим. наук, 1976, вып. 6, с. 92-96.
5. Prusoff W. H. Tetrahedron Lett., 1978, № 50, p. 4981-4984.
6. Coe P. L., Harnden M. R., Jones A. S., Noble S. A., Walker R. T. J. Med. Chem., 1982, v. 25, № 11, p. 1329-1334.
7. Baker D. A., Harder R. A., Tolman R. L. J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1974, № 5, p. 167-168.
8. Watanabe K. A., Chiu T. M., Hollenberg D. H., Fox J. J. J. Org. Chem., 1974, v. 39, № 17, p. 2482-2486.
9. Zemlicka J. In: Synthetic procedures in nucleic acid chemistry/Eds Zorbach W. W., Tipson R. S. N. Y.: Wiley Interscience, p. 358-361.
10. Sung W. L. J. Chem. Soc. Chem. Commun., 1981, № 20, p. 1089-1091.
11. Divakar K. J., Reese C. B. J. Chem. Soc. Perkin Trans. I, 1982, № 5, p. 1171-1176.
12. Robins M. J., Wilson J. S. J. Amer. Chem. Soc., 1981, v. 103, № 4, p. 932-933.
13. Lessor R. A., Leonard N. J. J. Org. Chem., 1981, v. 46, № 21, p. 4300-4301.
14. Matsuda A., Pankiewicz K., Marcus B. K., Watanabe K. A., Fox J. J. Carbohydr. Res., 1982, v. 100, p. 297-302.
15. Vorbrüggen H., Krolkiewicz K., Bennua B. Chem. Ber., 1981, B. 114, № 4, S. 1234-1255.
16. Sanchez R. A., Orgel L. E. J. Mol. Biol., 1970, v. 47, № 3, p. 531-543.
17. Holý A. Collect. Czech. Chem. Commun., 1973, v. 38, № 1, p. 100-114.
18. Мельник С. Я., Миникер Т. Д., Ярцева И. В., Преображенская М. Н. Биоорг. химия, 1982, т. 8, № 8, с. 1094-1101.
19. Srivastava P. S., Robins R. K., Takusagawa F., Berman H. M. J. Heterocycl. Chem., 1981, v. 18, p. 1659-1662.
20. De Clercq E., Balzarini J., Descamps J., Huang G.-F., Torrence P. F., Bergstrom D. E., Jones A. S., Serafinowski P., Verhelst G., Walker R. T. Mol. Pharmacol., 1982, v. 21, p. 217-223.
21. Krajewska E., Shugar D. Acta biochim. pol., 1975, v. 22, № 2, p. 185-194.
22. Schaeffer H. J., Beauchamp L., de Miranda P., Elion G. B., Bauer D. J., Collins P. Nature, 1978, v. 272, № 5654, p. 583-585.
23. De Clercq E., Descamps J., De Somer P., Barr P. J., Jones A. S., Walker R. T. Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1979, v. 76, № 6, p. 2947-2951.
24. David S., Lubinear A. Carbohydr. Res., 1973, v. 29, p. 15.
25. Майчук Ю. Ф. Вирусные заболевания глаз. М.: Медицина, 1981, с. 105.
26. Siegel S. In: Nonparametric statistics for the behavioral sciences/N. Y.: McGraw - Hill, 1956, p. 127-136.

Поступила в редакцию
22.V.1984

SYNTHESIS AND INVESTIGATION
OF 5-(TRIALKYLSILYL)PYRIMIDINE NUCLEOTIDES.
A NOVEL α -2'-DEOXYNUCLEOSIDE WITH ANTIHERPETIC ACTIVITY

MELNIK S. Ya., BAKHMEDOVA A. A., MINIKER T. D., YARTSEVA I. V.,
PREOBRAZHENSKAYA M. N., ZAGULYAEVA O. A.*, MAMAEV V. P.*,
CHEKUNOVA E. V.***, MARENNIKOVA S. S.**

All-Union Cancer Research Center, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow;
*Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch of the Academy
of Sciences of the USSR;

**Research Institute of Virus Preparations, Ministry of Public Health of the USSR,
Moscow

Glycosylation of 5-trimethylsilyl- and 5-triethylsilyluracil as well as 5-trimethylsilylcytosine with 2-deoxy-3,5-di-*O*-*p*-toluyl- α -*D*-ribofuranosylchloride and subsequent deacylation led to α - and β -anomers of 5-Me₃SidUrd, 5-Et₃SidUrd and 5-Me₃SidCyd. 1-(α -*D*-Arabinofuranosyl)-5-trimethylsilyluracil was synthesized starting from the derivatives of 2,3,5-tri-*O*-benzoyl-*D*-arabinofuranose and then converted to α -5-Me₃SidUrd via 1-(2,2'-anhydro- α -*D*-ribofuranosyl)-5-trimethylsilyluracil and 1-(2-chloro-2-deoxy- α -*D*-arabinofuranosyl)-5-trimethylsilyluracil. Out of all synthesized compounds, only α -5-Me₃SidUrd inhibits the replication of HSV-1 both in vitro and in vivo; it also exerts a pronounced therapeutic effect in quinea pigs with herpes genitalis induced by HSV-2. The resistance of α -5-Me₃SidUrd to pyrimidine phosphorylases facilitates its antiviral activity in vivo.