



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 577.113.3 : 547.854.4'455.562.057

© 1992 г.

*М. В. Ясько, А. М. Атражев, Д. Ю. Мозжерин,
Н. А. Новиков*, И. И. Федоров*, А. А. Браевский*

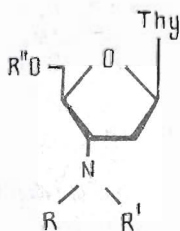
СИНТЕЗ И НЕКОТОРЫЕ БИОХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА АЛКИЛИРОВАННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ 2',3'-ДИДЕЗОКСИ-3'-АМИНОТИМИДИНА

*Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва;
Московская медицинская академия им. И. М. Сеченова

Среди ряда аналогов 2'-дезоксинуклеозидов, модифицированных по 3'-положению, определенный интерес представляет 3'-дезоксигуанозин (3'-дНГ). Однако свойство 3'-дНГ быть предшественником активного ингибитора [1] не находит применения в антивирусной химиотерапии в связи с тем, что 5'-трифосфат данного аналога является мало-селективным и эффективно подавляет синтез ДНК, катализируемый как обратными транскриптазами ретровирусов, так и ДНК-полимеразами человека. Так как известно, что обратные транскриптазы ретровирусов менее избирательны к модифицированным субстратам, чем ДНК-полимеразы высших организмов [2], представлялось перспективным введение дополнительных модификаций в молекулу 3'-дНГ. Попытки такого рода, направленные на получение 3'-ацилированных аналогов 3'-дНГ, уже предпринимались, но, по-видимому, этот тип производных оказался мало-перспективным [3].

Мы предположили, что для сохранения способности производных 3'-дНГ ингибировать синтез ДНК необходимо сохранение основных свойств атома азота при С3'. Поэтому представлялось интересным получить 3'-N-алкилированные производные 3'-дНГ для изучения их способности ингибировать репликацию ретровирусов, а также для изучения субстратной специфичности их 5'-трифосфатов к различным ДНК-полимеразам.

В настоящей работе предложены общие методы синтеза 3'-N-моно- и диалкилированных производных 3'-дНГ. Попытки их получения из 3'-O-метилированного ксилонуклеозидов в реакции с низшими алкиламинами не привели к желаемым продуктам [4]. Использование нами традиционных методов алкилирования аминогрупп в реакции с алкилгалогенидами в присутствии оснований показало, что первоначальным объектом алкилирования является N3 гетероциклического основания.



(I)
(II)
(III)

R=Me, R'=R''=H
R=R'=Me, R''=H
R=Me, R'=H

R''=P₃O₅H₄

В первом методе исходным соединением являлся 2',3'-дидезокси-3'-азидотимидин, который через промежуточную стадию трифенилфосфилиминного производного был превращен с низким выходом в монометилпроизводное (I) действием иодистого метила в диоксане. Второй метод позволил получить также и диметиламинопроизводное (II). В этом случае реакция 3'NH₂T с параформом в MeOH, а затем восстановление NaBH₄ с высоким выходом приводило к образованию смеси соединений (I) и (II) со значительным преобладанием (I). Затем (I) был трансформирован в трифосфат (III) традиционным методом (POCl₃ в триэтилфосфате, а затем тетрабутиламмонийпирофосфат) [5].

Строение полученных производных 3'NH₂T доказано методами ¹H- и ¹³C-ЯМР, УФ-, масс-спектрокопии и элементным анализом.

Соединение (I). ¹H-ЯМР-спектр (250 МГц) в D₂O: δ 7,61к (1H, J_{3,5} 1,2 Гц, H6), 6,18 псевдо-т (1H, J_{1',2'} 6,3, H1'), 3,92м (1H, J_{4',3'} 1,7, H4'), 3,82дд (1H, J_{5'a,4'} 3,2, J_{5'a,5'б} -12,6, H5'a), 3,70дд (1H, J_{5'б,4'} 4,9, H5'б), 3,34м (1H, H3'), 2,36м (1H, J_{2'a,3'} 7,6, J_{2'a,2'б} -10,6, H2'a), 2,27м (1H, J_{2'б,3'} 6,0, H2'б), 2,32с (3H, N3-Me), 1,83д (3H, C5-Me). ¹³C-ЯМР-спектр (62,8 МГц) в D₂O: δ 169,7 (C2), 154,7 (C4), 139,8 (C6), 113,6 (C5), 87,6 (C1'), 87,2 (C4'), 64,1 (C5'), 60,9 (C3'), 38,9 (C2'), 35,4 (Me-N), 14,1 (Me-C5). Масс-спектр: 256 (M⁺+1).

Соединение (II). ¹H-ЯМР-спектр в D₂O: δ 7,54к (1H, J_{3,5} 1,2 Гц, H6), 6,07дд (1H, J_{1',2'} 6,6, H1'), 4,04м (1H, J_{4',3'} 2,1, H4'), 3,76дд (1H, J_{5'a,4'} 2,6, J_{5'a,5'б} -12,4, H5'a), 3,62дд (1H, J_{5'б,4'} 5,5, H5'б), 3,15м (1H, H3'), 2,43м (1H, J_{2'a,3'} 7,2, J_{2'a,2'б} -14,5, H2'a), 2,20м (1H, J_{2'б,3'} 8,5, H2'б), 2,16с (6H, N3'-(Me)₂), 1,77д (3H, C5-Me). ¹³C-ЯМР-спектр в D₂O: δ 170,3 (C2), 154,9 (C4), 139,9 (C6), 113,8 (C5), 88,1 (C1'), 84,9 (C4'), 66,7 (C5'), 65,1 (C3'), 43,7 (C2'), 34,9 ((Me)₂-N), 14,2 (Me-C5). Масс-спектр: 270 (M⁺+1).

Терминаторные свойства (III) в бесклеточных системах были изучены по методике [1]. Установлено, что оно не терминирует элонгацию праймера при катализе ДНК-полимеразой α человека, но является терминирующим субстратом для ДНК-полимеразы β (печень крысы) и обратной транскриптазы вируса миелобластома птиц (ВМП) и вируса иммунодефицита человека (ВИЧ). Терминационные свойства соединения (III) для двух последних ферментов на 1,5–2 порядка слабее, чем для 5'-трифосфатов 3'NH₂T и азидотимидина. Для существенного терминирования необходим 300-кратный избыток соединения (III) над природным dTTP. Для ДНК-полимеразы I из *E. coli* наблюдалось неспецифическое ингибирование процесса. По данным ингибиторного анализа установлено, что реакция полимеризации ингибировалась на 50% при добавлении 10-кратного по отношению к dTTP избытка производного (III) для обратной транскриптазы ВИЧ, 30-кратного избытка для обратной транскриптазы ВМП и 300-кратного для ДНК-полимеразы β. ДНК-полимераза α человека не ингибировалась даже 1000-кратным избытком соединения (III).

Таким образом, показано, что введение алкильных заместителей по 3'-аминогруппе 5'-трифосфата 3'NH₂T понижает субстратные свойства и вызывает возникновение некоторой избирательности подавления обратной транскриптазы ретровирусов. Следует отметить, что предложенные методы синтеза позволяют также получать и другие производные 3'NH₂T, содержащие алкильные заместители.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Chidgevadze Z. G., Beabealashvilli R. Sh., Krayevsky A. A., Kukhmanova M. K. // Biochim. et biophys. acta. 1986. V. 868. № 2. P. 145–152.

2. Krayevsky A., Kukhanova M. // *Sov. Sci. Rev. D. Physicochem. Biol.* 1991. V. 9, P. 179–242.
3. Chinchaladze D. Z., Prangishvili D. A., Scamrov A. V., Beabekashvili R. Sh., Dyatkina N. B., Krayevsky A. A. // *Biochim. et biophys. acta.* 1989. V. 1008. P. 113–115.
4. Vial J.-M., Johansson N. G., Chattopadhyaya J. // 9th International Round Table Nucleosides, Nucleotides and their Biological Applications. July 30 – August 3. 1990. Uppsala, Sweden. P. 174.
5. Ludvig I. // *Acta biochim. et biophys. Acad. sci. Hung.* 1981. V. 16. P. 131–133.

Поступило в редакцию
10.IX.1991

M. V. JASKO, A. M. ATRAZHEV, D. Yu. MOZHERIN, N. A. NOVICOV*,
J. J. FEDOROV*, A. A. KRAYEVSKY

SYNTHESIS AND SOME BIOLOGIC PROPERTIES OF ALKYLATED
DERIVATIVES OF 2',3'-DIDEOXY-3'-AMINOTHYIMIDINE

V. A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences,
Moscow;
* I. M. Sechenov Medical Academy, Moscow

Two schemes for the synthesis of 3'-N-alkylated derivatives of 3'-aminothymidine are developed, including the reaction of 3'-aminothymidine with formaldehyde followed by the sodium borohydride reduction or preparation of the triphenylphosphinimine derivative and subsequent reaction with methyl iodide.