Союз Советских Социалистических Республик

Государственный комитет СССР по делам изобретений и открытий

ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ

К АВТОРСКОМУ СВИДЕТЕЛЬСТВУ

(11) 910652

(61) Дополнительное к авт. свид-ву -

(22) Заявлено 20.08.76 (21) 2405855/23-04

с присоединением заявки № -

(23) Приоритет -

Опубликовано 07.03.82. Бюллетень № 9

Дата опубликования описания 10.03.82

(51) М. Кл.[3] C 07 H 19/16

(53) УДК 547.963(088.8)

(72) Авторы изобретения: В.П. Кумарев, В.С. Богачев, В.Ф. Кобзев и Л.В. Баранова

(71) Заявитель: Институт цитологии и генетики Сибирского отделения АН СССР

13 ТЕХНИЧЕСКАЯ БИБЛИОТЕКА 13

(54) ПРОИЗВОДНЫЕ ПУРИНОВЫХ ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИДОВ КАК КОНЦЕВЫЕ МОНОМЕРЫ ДЛЯ СИНТЕЗА ПОЛИТИОДЕЗОКСИНУКЛЕОТИДОВ И СПОСОБ ИХ ПОЛУЧЕНИЯ

1

Изобретение относится к синтезу биологически активных химических соединений, а именно производных пуриновых дезоксинуклеозидов, которые могут быть использованы как мономеры для синтеза политиодезоксинуклеотидов.

Известны например 5' -Cℓ-и 5' -Br- -производные рибонуклеозидов [1] и [2]. а также 5' -O-ToS-N^6-бензоилдезоксиаденозин [3]. Возможность замещения 5' -электрофильных групп в таких соединениях обусловливает их использование в межмолекулярных реакциях нуклеофильного замещения, например, с N^3-атомом собственного гетероциклического основания. В первом случае образуются олиготионуклеотиды, во втором - N^3-5' -циклонуклеозиды.

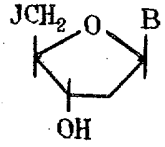
5' -O-ToS-N^6-бензоилдезоксиаденозин [3] используется как полупродукт для синтеза одного из мономеров политионуклеотидного синтеза, а также в качестве концевого (терминирующего) мономера для этого же синтеза. Это соединение довольно стабильно ввиду низкой реакционноспособности 5' -ToS группы, что с одной стороны, предотвращает образование N^3,5' -циклоаденозина в обычных условиях, а с другой - делает его малоэффективным в межмолекулярных реакциях нуклеофильного замещения.

2

Известен способ получения йодпроизводных пиримидиновых нуклеозидов [4], заключающийся в йодировании производных нуклеозидов метилтрифеноксифосфонийиодидом в диметилформамиде. Но йодирование в этих условиях незащищенных пуриновых нуклеозидов не дает йодпроизводных, образуются N^3,5' -циклонуклеозиды вследствие внутримолекулярной циклизации.

Целью изобретения является синтез высокореакционноспособных производных пуриновых дезоксинуклеозидов, которые могут быть использованы для политионуклеотидного синтеза.

Предлагаются производных пуриновых дезоксинуклеозидов формулы



(I)

где B - остаток N^6-бензоиладенина или N^2-изобутирилгуанина.

Соединения формулы I являются концевыми мономерами для синтеза политиодезоксинуклеотидов.

Для понижения нуклеофильности N^3-атома гетероциклического основания и предотвращения образования побочного $N^3,5'$-циклонуклеозида для йодирования используют N^6-бензоил-$2'$-дезоксиаденозин или N^2-изобутирил-2 -дезоксигуанозин.

Способ согласно изобретению заключается в том, что N^6-бензоил-2 --дезоксиаденозин или N^2-изобутирил-$2'$-дезоксигуанозин йодируют метилтрифеноксифосфониййодидом в диметилформамиде при комнатной температуре.

Полученные производные реагируют с тимидин-$3'$-фосфотиоатом в 100 раз быстрее соответствующих тозильных производных. Это трудно было предвидеть, исходя из литературных данных, так как для более простых производных наблюдается обратная зависимость: алкилтозилаты в два раза реакционноспособней йодалкильных производных в реакциях алкилирования.

Пример 1. $5'$-Йод-N^6-бензоил-$2'$,$5'$-дидезоксиаденозин (1).

N^6-Бензоил-$2'$-дезоксиаденозин (0,35 г, 1 ммоль) растворяют в диметилформамиде (1 мл) и к раствору добавляют раствор метилтрифеноксифосфониййодида (0,54 г, 1,2 ммоль) в диметилформамиде (1 мл). Реакционную смесь выдерживают 20 мин, добавляют метанол (1 мл) и выливают в смесь 15 мл 1%-ного раствора соды, содержащего 0,1 г тиосульфата натрия, и 15 мл хлороформа. Нижний слой отделяют на делительной воронке, промывают водой (4·20 мл) и после концентрирования до 2-3 мл наносят на колонку с силикагелем (26·1,7 см), уравновешенную хлороформом. Ступенчатая элюция хлороформом (50 мл), затем 3%-ным раствором этанола в хлороформе при скорости 3 мл/ч дает 10500 единиц оптической плотности при 283 нм соединения (1). После удаления растворителя в вакууме осадок кристаллизуют из хлороформа. Кристаллы отфильтровывают, промывают хлороформом (2·1 мл) и сушат в вакууме. Выход 0,187 г (40%).

Вещество гомогенно при тонкослойной хроматографии на силикагеле в системе хлороформ-метанол (9:1V/V), т.пл. 250°C (с разл.). УФ-максимум (H_2O) 283 нм(ε 20700), 224 нм (ε 28200), 255 нм(ε 12500).

Пример 2. $5'$-Йод-N^2-изобутирил-$2'$,$5'$-дидезоксигуанозин (2).

Йодирование N^2-изобутирил-2 -дезоксигуанозина (0,34 г, 1 ммоль) метилтрифеноксифосфониййодидом (0,54 г, 1,2 ммоль) в 2 мл диметилформамида в условиях примера 1 дает 0,32 (71%) соединения 2. После осаждения из спирта в эфир вещество элюируют с силикагеля 15%-ным раствором этанола в хлороформе. Оно гомогенно при тонкослойной хроматографии на силикагеле в системе хлороформ-метанол (2:1 V/V), т.пл. 163°C (с разл.), УФ-максимум (этанол) 255-260 нм (ε 16200), 281 нм (ε 11900).

Пример 3. $2'$-Дезокси-[гуанидид(3'→5')-$5'$-дезокси-$5'$-тиотимидилил-(3'→5')-$5'$-дезокси-$5'$-тиоцитидилил-(3'→5')-$5'$-дезокси-5-тиоаденозин] (3).

Тетралитиевую соль $2'$-дезокси[N^2--изобутирилгуанилил(3'→5')-$5'$-дезокси-$5'$-тиотимидилил (3'→5')-N^4--анизоил-$5'$-дезокси-$5'$-тиоцитидин]--$3'$-фосфотиоата (0,112 г,0,089 ммоль) растворяют при встряхивании в диметилформамиде (1 мл) и прибавляют раствор N^6-бензоил-$2'$ $5'$-дидезокси--$5'$-йодаденозина (0,082 г,0,178 ммоль) в диметилформамиде (1 мл). Через 6 ч к реакционной смеси добавляют ацетон (10 мл), выпавший осадок центрифугируют, промывают ацетоном (3× × 4 мл), сушат в вакууме. Осадок растворяют в 5 мл 12%-ного раствора NH_4OH, выдерживают 2 ч при 50°C, аммиак удаляют в вакууме, остаток растворяют в 2 мл 0,02 н. NH_4HCO_3 и вещество выделяют путем гель-хроматографии на колонке с сефадексом G-25 (5×50 см). Элюцию проводят 0,02 М NH_4HCO_3 в 20%-ном этаноле, pH 7,5. Элюат, содержащий вещество, собирают, воду удаляют упариванием в вакууме. Затем продукт лиофильно высушивают. Выход триаммонийной соли

(3) 0,109 г (96%). УФ-максимум (H_2O) 261 нм (ε 37900), Kd при гель-хроматографии в указанных выше условиях 0,25. Ферментативное расщепление соединения (3) сырым змеиным ядом при 37°С в течение 10 мин при pH 8,5 дает 5'-фосфаты 2',5'-дидезокси-5'--тиоаденозина, цитидина, тимидина и 2',5'-дидезокси-5'-тиогуанозин в близком к эквимолекулярному соотношении.

Аналогичным образом может быть использован и 5'-йод-N^2-изобутирил--2',5'-дидезоксигуанозин.

5'-Йод-N^6-бензоил-2',5'-дидезоксиаденозин.

Найдено,%: C 43,6; H 3,6; J 27,5.

$C_{17}H_{16}N_5O_2J$

Вычислено,%: C 43,9; H 3,44; J 27,28.

5-Йод-N^2-изобутирил-2',5'-дидезоксигуанозин.

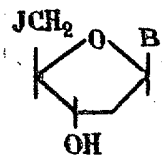
Найдено,%: C 37,4; H 4,3; J 28,6

$C_{14}H_{18}N_5O_4J$

Вычислено,%: C 37,61; H 4,03; J 28,38.

Формула изобретения

1. Производные пуриновых дезоксинуклеозидов общей формулы



где B_2 - остаток N^6-бензоиладенина или N^2-изобутирилгуанина, как концевые мономеры для синтеза политиодезоксинуклеотидов.

2. Способ получения соединений по п. 1, отличающийся тем, что N^6-бензоил-2'-дезоксиаденозин или N^2-изобутирил-2'-дезоксигуанозин йодируют метилтрифеноксифосфониййодидом в диметилформамиде.

Источники информации, принятые во внимание при экспертизе

1. Патент Японии № 49-339263, кл. C 07 d 51/52, опублик. 1974.

2. Патент Японии № 50-25477, кл. C 07 d 19/06, опублик. 1975.

3. Chladek S. Nagyvary, "Nucleophilic Reactions of Some Nucleophilic Phosphorothioates", J. Amer. Chem. Soc. 94,2079, 1972.

4. J .P.H. Vevheyden, J .G. Moffatt, "Halosugarnucleozids", J .Org. Chem., 35,2319, 1970.

Составитель Г. Коннова
Редактор З. Бородкина Техред Л.Пекарь Корректор М. Демчик

Заказ 1021/26 Тираж 390 Подписное
ВНИИПИ Государственного комитета СССР
по делам изобретений и открытий
113035, Москва, Ж-35, Раушская наб., д. 4/5

Филиал ППП "Патент", г. Ужгород, ул. Проектная, 4