

СИНТЕЗ N-ЦИАНОПРОИЗВОДНЫХ ПИРИМИДИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ УСТОЙЧИВОСТИ В ВОДНОЙ СРЕДЕ

© 2002

В.В. Вишняков, П.П. Пурыгин, С.В. Паньков, Н.А. Панькова, Ю.П. Зарубин¹

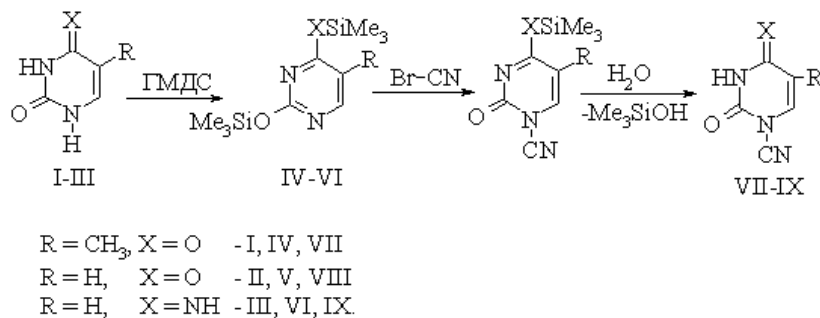
1-Цианопроизводные тимина, урацила и цитозина синтезированы путем взаимодействия триметилсилильных производных пириимидиновых оснований с эквимольным количеством бромциана в среде абсолютного бензола. Исследована гидролитическая устойчивость синтезированных соединений. Установлено, что их реакционная способность уменьшается в ряду 1-цианоурацил > 1-цианотимин > 1-цианцитозин.

Введение

Ранее в работах [1,2] сообщалось о синтезе и реакционной способности N-цианопроизводных азолов. Однако N-цианопроизводные пириимидинового ряда до сих пор не были получены. N-Цианопроизводные пириимидиновых оснований могут представлять собой ценные субстраты для синтеза ациклических и циклических аналогов природных нуклеозидов и нуклеотидов, обладающих противовирусной активностью.

Для синтеза N-цианопроизводных пириимидиновых оснований нами был использован метод взаимодействия триметилсилильных производных пириимидиновых оснований с бромцианом.

Реакции проводились согласно следующей схеме:



¹ Вишняков Василий Валерьевич (vishn@ssu.samara.ru), Пурыгин Петр Петрович, Паньков Сергей Васильевич, Панькова Наталья Александровна, Зарубин Юрий Павлович, кафедра органической химии Самарского государственного университета, 443011, Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

При взаимодействии 2,4-бис(триметилсилилокси)урацила и 2,4-бис(триметилсилилокси)тимина с бромочианом при 60 °С в течение 24 часов образуются 1-цианопроизводные триметилсилилзамещенных гетероциклов. Для снятия триметилсилильной группы в среде абсолютного 1,4-диоксана их обрабатывали эквивалентным количеством воды и выделяли 1-цианозамещенные пиримидиновые основания с выходами 80% (I) и 74% (II). Особо следует отметить, что образование 1-цианцитозина (III) из силилированного цитозина и бромочиана протекает без нагревания в течение 48 часов с выходом 86%.

Состав и структура полученных 1-цианопроизводных пиримидиновых оснований подтверждены данными ИК и ЯМР спектроскопии.

Как видно по данным ИК спектров, для 1-цианопроизводных пиримидиновых оснований (I–III) характерно наличие полосы поглощения средней интенсивности в области 2285–2260 см⁻¹, которая соответствует валентному колебанию циано-группы. Сравнение ИК спектров 1-цианопиримидинов со спектрами исходных пиримидиновых оснований позволяет определить не только наличие циано-группы, но и установить ее положение.

Так, если в ИК спектрах исходных пиримидиновых оснований наблюдается широкая полоса поглощения валентных колебаний ассоциированных N–H-связей в области 3500–2700 см⁻¹, то в спектрах полученных 1-цианопиримидинов (I–III) данная полоса отсутствует. В области 3120–3030 см⁻¹ присутствуют сигналы C(sp²)–H-связей пиримидинового кольца, а при 1740–1680 см⁻¹ проявляются валентные колебания карбонильных групп. Сохранение полос поглощения C(sp²)–H-связей и карбонильных групп в полученных продуктах свидетельствует о том, что циано-группа заменила атом водорода у эндоциклического атома азота N1. Приведенные данные подтверждают образование 1-цианурацила (II) и 1-цианотимина (I). В случае цитозина циано-группа могла взаимодействовать как с эндоциклическим (N1), так и с экзоциклическим (4-NH₂) атомами азота. Из литературных данных известно, что при введении циано-группы по экзоциклическому атому азота частоты валентных колебаний цианамидной связи проявляются в области 2230–2100 см⁻¹. Так, в N-(адамантил-1)-цианамиде циано-группа проявляется при 2230 см⁻¹, а в N-(хинолинил-4)цианамиде при 2140 см⁻¹. Относительно высокая частота валентного колебания циано-группы соединений (I–III) говорит о присутствии акцепторного заместителя в α-положении к циано-группе. В качестве такого акцептора, вероятно, выступает эндоциклический атом азота N1.

Данные ПМР спектроскопии подтверждают приведенный анализ структур полученных соединений по результатам ИК спектров. В ПМР спектрах 1-цианопиримидинов протоны, соответствующие гетероциклическому основанию, имеют характерные величины химического сдвига и констант спин-спинового взаимодействия.

Так, в случае 1-цианурацила (II) гетероциклическое кольцо представлено тремя четкими однопротонными сигналами: два дублета при 5.92 и 7.92 м. д. с константой спин-спинового взаимодействия, равной 7.9 Гц, соответствующие протонам в 5 и 6 положениях, и уширенный синглет для протона эндоциклической 3-NH-группы в области 12.08 м. д.

Для 1-цианотимина (I) характерно наличие синглета при 1.80 м. д. с интегральной интенсивностью для трех протонов метильной группы и однопротонного синглета в области 7.80 м. д. для протона в 6 положении гетероциклического кольца. Уширенный синглет для протона эндоциклической 3-NH-группы проявляется в области 12.10 м. д.

В спектре 1-цианоцитозина (III) присутствуют два однопротонных дублета при 5.98 и 7.77 м.д. с константой спин-спинового взаимодействия, равной 7.5 Гц, характеризующие протоны в 5 и 6 положениях пиримидинового кольца, и уширенный синглет с интегральной интенсивностью для двух протонов экзоциклической аминогруппы (4-NH₂) в области 8.12 м.д.

1. Гидролиз N-цианопроизводных пиримидиновых оснований

Изучение устойчивости N-цианопроизводных и пиримидиновых оснований в водной среде осуществлялось в тетрабортном буферном растворе при двух температурах — 40 и 70 °С и значениях pH 7.55, 7.47 и 9.08, 8.86. Контроль за ходом гидролиза осуществлялся с помощью тонкослойной хроматографии по исчезновению пятна N-цианопроизводного пиримидинового основания.

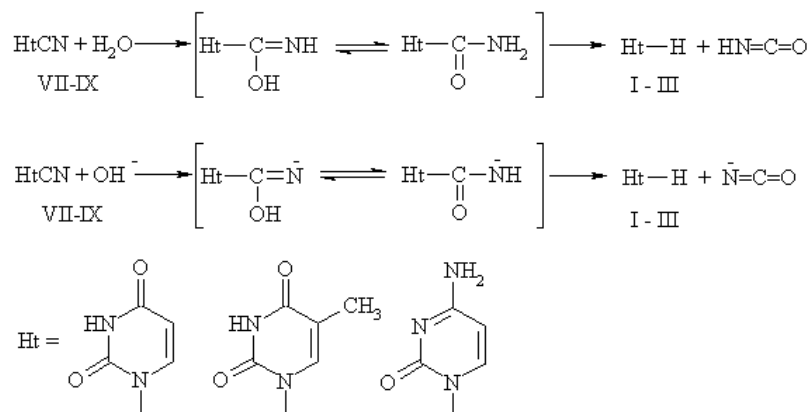
В таблице приведены значения R_f N-цианопроизводного основания и R_f продукта реакции, измеренные при использовании в качестве элюента ацетона.

Первоначально нами изучен гидролиз N-цианопроизводных пиримидиновых оснований при $t = 40$ °С и pH 7.55, 9.08. При этом за 40 часов образования продуктов гидролиза не наблюдалось.

При $t = 70$ °С и pH 7.47, 8.86 гидролиз N-производных пиримидиновых оснований проходил полностью за разные промежутки времени.

В таблице приведены значения R_f N-цианопроизводных оснований продуктов гидролиза, а также периоды полного распада при температуре $t = 70$ °С и разных значениях pH среды.

Изучение продуктов гидролиза показало, что они представляют собой пиримидиновые основания. При гидролизе дополнительных пятен (кроме исходного N-цианопроизводного и продукта гидролиза) на хроматограмме не наблюдалось. Поэтому вышеизложенное позволяет предложить следующую схему гидролиза соединений (VII–IX):



Вероятно, первоначально идет нуклеофильное присоединение молекулы воды по циано-группе с последующим разложением карбамоильного производного и образованием свободного основания.

Данные таблицы свидетельствуют о том, что устойчивость N-цианопроизводных пиримидиновых оснований закономерно изменяется в ряду VIII > VII > IX.

Таблица

Значения R_f N-цианопроизводных пиримидиновых оснований,
 R_f продуктов гидролиза и периоды полного распада t

№ соединения	VII	VIII	IX
R_{f1}^a	0.86	0.82	0.60
R_{f2}	0.50	0.40	0
t_1^b , ч	5.0–5.5	5.0–5.5	7.0–7.5
t_2 , ч	1.2–1.3	1.0–1.2	1.5–2.0

Примечания:

^a R_{f1} — R_f исходного соединения, R_{f2} — R_f продукта гидролиза;

^b t_1 , t_2 — периоды полного распада при pH 7.47 и 8.86 соответственно.

Это объясняется тем, что тимин и цитозин содержат электронодонорные заместители — метильную и амино-группы соответственно, и в результате ослабляются электроноакцепторные свойства гетероциклического остатка. Проведенные нами квантово-химические расчеты соединений VII–IX методом MINDO/3 показывают, что положительный заряд на атоме углерода циано-группы уменьшается в этом ряду.

2. Экспериментальная часть

ИК спектры снимали на спектрофотометре ИКС-29 в таблетках из KBr. Спектры ПМР получены на спектрофотометре Bruker WP-200SJ с рабочей частотой 200.13 МГц. Отсчет химических сдвигов проводили относительно сигнала ТМС.

1-Цианотимин. Тимин (0.231 г, $18.4 \cdot 10^{-4}$ моль) и сульфат аммония (0.037 г, $28 \cdot 10^{-5}$ моль) помещали в колбу и приливали гексаметилдисилазан (14 мл). Полученную суспензию нагревали до полного растворения тимина в течение 8–10 часов. Затем избыток гексаметилдисилазана отгоняли в вакууме. К полученному маслу (IV) приливали абсолютный бензол (4 мл) до образования прозрачного раствора и прибавляли бромочиан (0.388 г, $36.6 \cdot 10^{-4}$ моль). Полученный раствор нагревали при 50–70 °С в течение 24 часов. По истечении времени бензол и триметилбромсилан отгоняли в вакууме ($p = 18$ мм рт. ст., $t = 80$ °С). Полученное масло растворяли в 1,4-диоксане (14 мл) и прибавляли воду (0.032 мл). Через 60 минут выделялся осадок непрореагировавшего тимина. Осадок отфильтровывали. Фильтрат упаривали на ротаторном испарителе ($t \approx 60$ –80 °С). Получали масло, которое быстро закристаллизовывалось. Полученный 1-цианотимин очищали методом флэш-хроматографии на сухой колонке. Элюент: ацетон — петролейный эфир (1:1). Выход 80%, $t_{пл.} \approx 165$ –170 °С (при быстром нагревании), $t_{разл.} > 175$ °С (разлагается при медленном нагревании). ИК спектр, cm^{-1} : 2285 ($C \equiv N$), 1740, 1690 ($C=O$). ЯМР 1H (δ , м. д.): 7.80 с (H6), 12.10 уш.с. (3-NH).

1-Цианурацил. Получали аналогично соединению VII. Время реакции II с гексаметилдисилазаном 5–8 часов. Выход 74%, $t_{пл.} \approx 220$ –225 °С (при быстром нагревании), $t_{разл.} > 180$ °С (при медленном нагревании). ИК спектр, cm^{-1} : 2280 ($C \equiv N$), 1740, 1710 ($C=O$). ЯМР 1H (δ , м. д.): 7.92 д (H5), 5.92 д (H6), 12.08 уш.с. (3-NH).

1-Цианоцитозин. Получали аналогично соединению VII. Время реакции III с гексаметилдисилазаном 3 часа. Взаимодействие VI с бромочианом протекает при комнатной температуре в течение двух суток. 1-Цианоцитозин выпадал в виде белого осадка, который отфильтровывали и высушивали в вакууме. 1-Цианоцитозин

очищали методом флэш-хроматографии на сухой колонке. Элюент — абсолютный ацетон. Выход 86,5%, $t_{\text{разл.}} > 260\text{ }^{\circ}\text{C}$. ИК спектр, см^{-1} : 2255 ($\text{C}\equiv\text{N}$), 1680 ($\text{C}=\text{O}$). ЯМР ^1H (δ , м. д.): 7.77 д (H5), 5.98 д (H6), 8.12 уш. с. (4-NH_2).

Гидролиз 1-цианотимина. Соответствующий тетраборатный буферный раствор (0.9 мл) термостатировали в закрытом сосуде в течение 1 часа при температуре 70 (40) $^{\circ}\text{C}$. По истечении времени к буферному раствору приливали диметилсульфоксид (0.1 мл), содержащий 0.003 г 1-цианотимина, и перемешивали. Затем сразу же отбирали пробу, наносили на силуфольную пластину и хроматографировали в абсолютном ацетоне. Пятно с R_f 0.86 соответствовало исходному 1-цианотимину. Затем пробы отбирали с периодичностью в 10 минут — для pH 8.86 и 30 минут для pH 7.47. После полного гидролиза пятно с R_f 0.86 исчезло и осталось пятно с R_f 0.5, соответствующее тимину. Структура тимина доказана сравнением R_f продукта гидролиза с R_f продажного реактива, а также сравнением ИК спектров.

Гидролиз 1-цианоурацила. Гидролиз 1-цианоурацила проводили аналогично гидролизу 1-цианотимина. При протекании гидролиза пятно 1-цианоурацила с R_f 0.82 исчезло и образовалось пятно урацила с R_f 0.40. Структура урацила доказана сравнением R_f продукта гидролиза с R_f продажного реактива, а также методом ИК спектроскопии.

Гидролиз 1-цианоцитозина. Методика гидролиза 1-цианоцитозина аналогична гидролизу 1-цианотимина. R_f исходного 1-цианоцитозина — 0.6, R_f образующегося цитозина в ацетоне — 0. Структура образующегося цитозина доказана сравнением с R_f продажного реактива и идентичностью ИК спектров продажного реактива и продуктов гидролиза.

Работа выполнена при поддержке РФФИ (проект 01-04-48830).

Литература

- [1] Паньков С.В. Синтез и исследование свойств 1-цианазолов: Дис. ... канд. хим. наук. Самара, 1997. С. 45–56.
- [2] Пурьгин П.П., Паньков С.В. Синтез 1-цианазолов // Журнал орг. химии. 1995. Т. 31. Вып. 6. С. 934–936.

SYNTHESIS OF N-CYANODERIVATIVES OF THE PYRIMIDINE BASES AND THEIR STABILITY IN THE AQUEOUS MEDIUM

© 2002 V.V. Vishnyakov, P.P. Purygin, S.V. Pan'kov, N.A. Pan'kova, Yu.P. Zarubin²

1-Cyanoderivatives of the thymine, uracil and cytosine are synthesized by interaction of trimethylsilyl derivatives of the pyrimidine bases with equimolar quantity of cyanogen bromide in the environment of absolute benzol. Hydrolytic stability of the synthesized compounds is investigated. It is found that their reactivity decreases in a sequence 1-cyanouracil > 1-cyanothymine > 1-cyanocytosine.

Поступила в редакцию 9/XII/2002.

² Vishnyakov Vasily Valer'yevich (vishn@ssu.samara.ru), Purygin Pyotr Petrovich, Pan'kov Sergey Vasil'yevich, Pan'kova Natal'ya Aleksandrovna, Zarubin Yuri Pavlovich, Dept. of Organic Chemistry, Samara State University, Samara, 443011, Russia.