

# S-9-(2,3-二羟丙基)腺嘌呤类似物的合成及其对 S-腺苷-L-高半胱氨酸水解酶的抑制活性\*

王光星 王琳 赵知中\*\* 章天\*\*\* 陶佩珍\*\*\*

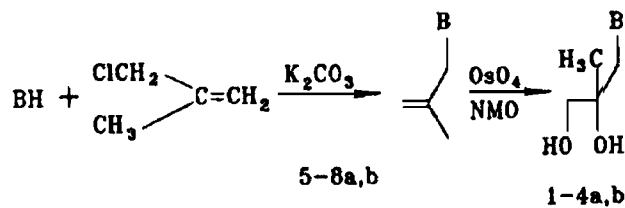
(中国医学科学院,中国协和医科大学药物研究所;\*\*\*医药生物技术研究所,北京 100050)

**摘要** 为了寻找高效、低毒的抗病毒剂,本文通过用腺嘌呤及嘧啶碱基与 3-氯-2-甲基丙烯缩合合成 6 个 DHPA 类似物的中间体 **5a, 5b, 6~8a** 和 **8b**。应用 OsO<sub>4</sub> 催化,在 N-甲基吗琳-N-氧化物氧化下对烯键进行邻位双羟化,合成了 5 个 DHPA 类似物 **1~4a, b**。对化合物 **5a, 5b, 6~8a, 8b** 的 <sup>1</sup>HNMR 数据进行了初步总结。对 4 个 DHPA 类似物测定了它们对 S-腺苷-L-高半胱氨酸水解酶(SAH)的抑制活性,其中化合物 **1** 的 IC<sub>50</sub> 为 1.1 mmol·L<sup>-1</sup>,其余化合物均无抑制活性。

**关键词** 开链核苷;DHPA 类似物;SAH 水解酶;抗病毒剂

由于抗病毒药物无环鸟苷(acyclovir)的上市,开链核苷以其结构简单,毒性小等特点引起了人们的注意。至今已上市的开链核苷类似物有法昔洛韦(famciclovir)和更昔洛韦(ganciclovir)等,同时还有许多开链核苷类似物用于抗病毒筛选。S-9-(2,3-二羟丙基)腺嘌呤[S-9-(2,3-dihydroxypropyl)adenine, S-DHPA]<sup>[1]</sup>即其中之一。它是腺苷中的糖被类似糖的结构所取代的开链核苷。药理实验表明,它是一个广谱抗病毒剂,对牛痘,疱疹和麻疹等病毒均有较好的抑制作用<sup>[2]</sup>。其抗病毒作用机制可能与抑制 S-腺苷-L-高半胱氨酸水解酶(S-adenosyl-L-homocysteine hydrolase, SAH)有关<sup>[3]</sup>。对该类化合物的构效关系研究表明,其侧链中 2',3'-邻位双羟结构对其抗病毒活性是必需的<sup>[4]</sup>。为了对该类化合物作进一步的研究,同时合成开链核苷类似物用于抗病毒筛选,我们保持其药效部分(邻位双羟结构),侧链中 2'-位氢用与其电性及立体位阻相仿的-CH<sub>3</sub> 取代,同时改换一系列内源性核苷酸的碱基,合

成 2'-甲基取代的 2',3'-邻位双羟结构的 DHPA 类似物 **1~4** 及其中间体 **5~8**,并观察其对 SAH 水解酶的抑制活性。首先我们合成中间体 **5~8**,然后将其双羟化<sup>[5]</sup>得到目标物 **1~4**,其合成路线如图 1:



<b>B:</b> Adenine-9-yl	<b>5a</b>	<b>1</b>
Adenine-3-yl	<b>5b</b>	
N <sub>2</sub> -Acetylguanine-9-yl	<b>6</b>	<b>2</b>
Cytosine-1-yl	<b>7</b>	<b>3</b>
5-Bromouracil-1-yl	<b>8a</b>	<b>4a</b>
5-iodouracil-1-yl	<b>8b</b>	<b>4b</b>

Fig 1 Route of synthesis.

碱基与 3-氯-2-甲基丙烯缩合,需在碱催化下进行。当用无水 K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> 为催化剂时,除胞嘧啶容易得到产物 **7** 外,其他如 5-溴尿嘧啶等碱基在相同条件下,大部分原料不进行反应,为此,我们将催化剂改为碱性较强的 NaH,在反应时间较短的情况下即可得到预想产物,且收

本文于 1996 年 5 月 14 日到。

\* 国家自然科学基金资助项目 No. 39470819

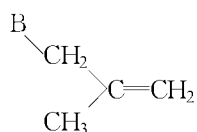
\*\* 联系人

率满意。而碱基为尿嘧啶和胸腺嘧啶时,上述两种条件下均无明显反应。腺嘌呤与侧链缩合时,除得到  $N_9$ -取代产物(**5a**)外,还分到一个产物,其量为主产物 **5a** 的 1/7,薄层层析的 Rf 值比  $N_9$ -取代产物(**5a**)大,mp 高于 **5a**。 $^1\text{H}$ NMR 谱表明,腺嘌呤  $C_2, C_8$  位上氢的  $\delta$  与其相应的 **5a** 有所不同。其中,  $\delta_{C_2-H}$  移向高场,而  $\delta_{C_8-H}$  移向低场,  $\delta_{NH_2}$  出现在二者之间。这表明该化合物为 **5a** 的位置异构体。其紫外最大吸收在 274 nm,比  $N_9$  取代的最大吸收(259 nm)高出 15 nm。文献<sup>[6]</sup>在 pH 1 的条件下,  $N_3$  取代的  $\lambda_{\min}$  与其在 pH 7 条件下相比,发生蓝移,即  $\lambda_{\min}(\text{pH } 1) - \lambda_{\min}(\text{pH } 7) < 0$ ; 而  $N_9, N_7$  取代的  $\lambda_{\min}$  发生红移,即  $\lambda_{\min}(\text{pH } 1) - \lambda_{\min}(\text{pH } 7) > 0$ 。本文分到的化合物 **5b**, pH 7 时  $\lambda_{\min}$  为 246 nm, 而 pH 1 时  $\lambda_{\min}$  则为 238 nm,  $\lambda_{\min}$

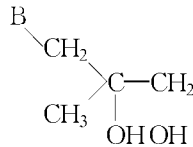
(pH 1) -  $\lambda_{\min}(\text{pH } 7) = -8 \text{ nm} < 0$ , 表明所分到的化合物为  $N_3$  取代产物 **5b**。对化合物 **5~8a, b** 的  $^1\text{H}$ NMR(表 3)比较发现,其侧链中末端双键 2 个氢  $\delta$  相差较大,  $\delta$  在 0.18~0.44 ppm 之间。嘌呤类(**5b** 除外)的  $\delta$  大于嘧啶类化合物,侧链上的  $\delta_{CH_2}$ , 嘌呤类处于两个烯氢之间,嘧啶类则处于两个烯氢的高场,这可能与嘌呤及嘧啶的电性和空间效应有关。化合物 **5~8** 在  $\text{OsO}_4$  催化下,用  $N$ -甲基吗林- $N$ -氧化物(NMO)氧化,制备性薄层分离,得到化合物 **1~4a, b**。我们曾采用氨水以及甲醇-氨饱和溶液等条件试图除去化合物 **2** 中的  $N_2$ -acetyl 保护基,但未获成功。

本文报导的 11 个化合物均为未知物,其结构及物理性质见表 1 和 2; 光谱数据见表 3。

Tab 1 Structures and physical properties of compounds **5~8a, b**



Compd	B	Formula	MP(°C)	Yield(%)	Anal(%)		
					Calcd	Found	
<b>5a</b>	Adenine-9-yl	$C_9H_{11}N_5$	196~198	85.6	C	57.12	57.10
					H	5.86	6.02
					N	37.02	36.87
<b>5b</b>	Adenine-3-yl	$C_9H_{11}N_5$	225~227	13.0	C	57.12	56.94
					H	5.86	5.69
					N	37.02	36.91
<b>6</b>	$N_2$ -Acetylguanine-9-yl	$C_{11}H_{13}N_5O_2$	224~228	84.0	C	53.42	53.26
					H	5.30	5.08
					N	28.32	28.06
<b>7</b>	Cytosine-1-yl	$C_8H_{11}N_3O$	240(dec)	59.0	C	58.16	57.92
					H	6.71	6.32
					N	25.44	25.08
<b>8a</b>	5-Bromouracil-1-yl	$C_8H_9N_2BrO_2$	188~190	90.2	C	39.20	38.77
					H	3.70	3.56
					N	11.43	11.32
<b>8b</b>	5-Iodouracil-1-yl	$C_8H_9N_2IO_2$	172~175	84.1	C	32.89	32.46
					H	3.11	3.27
					N	9.59	9.30

**Tab 2 Structures and physical properties of compounds 1~4a, b**

No.	B	Formula	MP(°C)	Yield(%)	Anal(%)		
					Caclcd	Found	
1	Adenine-9-yl	C <sub>9</sub> H <sub>13</sub> N <sub>5</sub> O <sub>2</sub>	200~203	42.4	C	48.42	48.56
					H	5.87	5.65
					N	31.38	31.13
2	N <sub>2</sub> -Acetylguanine-9-yl	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> N <sub>5</sub> O <sub>4</sub>	220(dec)	44.2	C	46.97	47.34
					H	5.38	5.26
					N	24.90	24.41
3	Cytosine-1-yl	C <sub>8</sub> H <sub>13</sub> N <sub>3</sub> O <sub>3</sub>	264~266	64.3	C	48.23	48.77
					H	6.58	6.20
					N	21.09	21.10
4a	5-Bromouracil-1-yl	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> N <sub>2</sub> BrO <sub>4</sub>	203~205	49.1	C	34.42	34.42
					H	3.97	3.90
					N	10.04	9.50
4b	5-Iodouracil-1-yl	C <sub>8</sub> H <sub>11</sub> N <sub>2</sub> IO <sub>4</sub>	196~198	31.4	C	29.46	29.00
					H	3.40	3.29
					N	8.59	8.25

**Tab 3 IR, HNMR, MS data of the compounds**

Compd	IR(KBr, cm <sup>-1</sup> )	EI-MS(m/z, I%)	<sup>1</sup> HNMR(DMSO-d <sub>6</sub> , δ ppm)
1	3300, 1650, 1470, 1220, 1040	223(M <sup>+</sup> ), 205, 192, 148(100), 135	8.08(1H, s, C <sub>8</sub> -H), 7.13(2H, s, br, NH <sub>2</sub> ), 7.05(1H, s, C <sub>6</sub> -H), 4.68-5.16(2H, s, br, OH), 4.68-5.16(2H, s, br, OH), 4.08(2H, d, J = 4.5 Hz, CH <sub>2</sub> ), 3.16(2H, s, CH <sub>2</sub> ), 0.92(3H, s, CH <sub>3</sub> )
2	3400, 1670, 1610, 1485, 1050	281(M <sup>+</sup> ), 250, 207, 165(100), 151	11.67(1H, s, br, NH), 11.37(1H, s, br, NH), 7.97(1H, s, C <sub>8</sub> -H), 4.85(1H, t, J = 8.0 Hz, OH), 4.72(1H, s, OH), 4.28(2H, d, J = 8.0 Hz, CH <sub>2</sub> O), 3.28(2H, s, CH <sub>2</sub> N), 2.16(3H, s, CH <sub>3</sub> CO-), 0.92(3H, s, CH <sub>3</sub> )
3	3350, 1670, 1600, 1500, 1390, 1050	199(M <sup>+</sup> ), 168, 125(100), 112, 81	7.44(1H, d, J = 7.2 Hz, C <sub>5</sub> -H), 7.04(2H, s, br, NH <sub>2</sub> ), 5.64(1H, d, J = 7.2 Hz, C <sub>6</sub> -H), 4.80(2H, s, br, OH), 3.64(2H, d, J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> O), 3.28(2H, s, CH <sub>2</sub> N), 1.00(3H, s, CH <sub>3</sub> )
4a	3360, 1670, 1440, 1040	280, 278(M-1), 249, 247, 206 (98), 204(100)	11.10(1H, s, br, NH), 7.92(1H, s, C <sub>6</sub> -H), 4.74(1H, t, J = 7.2 Hz, OH), 4.64(1H, s, OH), 3.68(2H, d, J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> O), 3.16(2H, s, CH <sub>2</sub> N), 0.96(3H, s, CH <sub>3</sub> )
4b	3400, 3260, 1670, 1080	326(M <sup>+</sup> ), 295, 252, 238(100), 195	11.48(1H, s, br, NH), 7.96(1H, s, C <sub>6</sub> -H), 4.72(1H, t, J = 7.2 Hz, OH), 4.65(1H, s, OH), 3.69(2H, d, J = 7.2 Hz, CH <sub>2</sub> O), 3.2(2H, s, CH <sub>2</sub> N), 0.97(3H, s, CH <sub>3</sub> )
5a	3300, 1690, 1650, 910	189(M <sup>+</sup> ), 188 (100), 148	8.12(1H, s, C <sub>8</sub> -H), 8.04(1H, s, C <sub>2</sub> -H), 7.06(2H, s, br, NH <sub>2</sub> ), 4.86(1H, s, =CH), 4.70(2H, s, CH <sub>2</sub> -C=), 4.56(1H, s, =CH), 1.68(3H, s, CH <sub>3</sub> )
5b	3280, 1685, 1648, 910	189(M <sup>+</sup> ), 188, 148	8.24(1H, s, C <sub>8</sub> -H), 7.88(2H, s, br, NH <sub>2</sub> ), 7.72(1H, s, C <sub>2</sub> -H), 4.88(1H, s, =CH), 4.72(2H, s, CH <sub>2</sub> -C=), 4.64(1H, s, =CH), 1.70(3H, s, CH <sub>3</sub> )
6	3490, 3200, 1690, 1620, 925	247(M <sup>+</sup> , 100), 205, 135	11.60(1H, s, br, NH), 7.88(1H, s, C <sub>8</sub> -H), 4.84(1H, s, =CH), 4.59(2H, s, CH <sub>2</sub> -C=), 4.40(1H, s, =CH), 2.16(3H, s, CH <sub>3</sub> CO), 1.68(3H, s, CH <sub>3</sub> )
7	3320, 3120, 1660, 1630, 905	165(M <sup>+</sup> ), 164 (100), 150	7.38(1H, d, J = 7.2 Hz, C <sub>6</sub> -H), 6.94(2H, s, br, NH <sub>2</sub> ), 5.64(1H, d, J = 7.2 Hz, C <sub>5</sub> -H), 4.78(1H, s, C=CH), 4.56(1H, s, =CH), 4.16(2H, s, CH <sub>2</sub> -C=), 1.62(3H, s, CH <sub>3</sub> )
8a	3400, 3010, 1690, 1670, 905	246(M+1), 244 (M-1), 203, 201, 55(100)	11.08(1H, s, br, NH), 8.04(1H, s, C <sub>6</sub> -H), 4.85(1H, s, =CH), 4.67(1H, s, =CH), 4.19(2H, s, CH <sub>2</sub> -C=), 1.66(3H, s, CH <sub>3</sub> )
8b	3400, 3010, 1690, 1650, 905	292(M <sup>+</sup> , 100), 249, 122	11.40(1H, s, br, NH), 8.0(1H, s, C <sub>6</sub> -H), 4.84(1H, s, =CH), 4.64(1H, s, =CH), 4.18(2H, s, CH <sub>2</sub> -C=), 1.64(3H, s, CH <sub>3</sub> )

对 11 个化合物中的 4 个测定了对大鼠 *s*-腺苷高半胱氨酸水解酶的抑制活性, 其中化合物 **1** 的  $IC_{50}$  为  $1.1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 其余化合物在最大实验浓度 ( $1.0 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 均无抑制活性。

## 实 验 部 分

熔点用显微熔点仪测定, 温度未校正; 红外光谱仪为 Perkin-Elmer 683 型; 核磁共振仪为 JOEL FX 90Q 型, TMS 为内标, 化合物中有活泼氢 (OH, NH) 均通过  $D_2O$  交换; 紫外光谱用岛津 UV-240 型测定; 质谱仪为 ZAB-2F 型; 元素分析用 Carlo Erba-1106 型仪测定; 薄层色谱用硅胶 GF<sub>254</sub> 型及真空柱色谱用硅胶 GH 型均为青岛海洋化工厂产品。

### 1 9-(2-甲基烯丙基)腺嘌呤(**5a**)与 3-(2-甲基烯丙基)腺嘌呤(**5b**)

腺嘌呤 0.54 g (4 mmol) 加入干燥 DMF 10 ml 中, 室温搅拌下加入氢化钠 0.1 g (4 mmol), 无气泡产生后, 滴加溶有 3-氯-2-甲基丙烯 0.54 g (6 mmol) 的 DMF 溶液 5 ml, 室温搅拌 12 h, 过滤, 滤液浓缩至干, 真空柱层析分离,  $CH_2Cl_2$ - $CH_3OH$  (5:0.5) 洗脱, 浓缩后得白色粉末 **5a**, 重 0.462 g, mp 196~198°C, 收率 85.6%, UV  $\lambda_{max}^{EtOH}$  259 nm。同时分得其位置异构体  $N_3$  取代产物 **5b**, 白色粉末 70 mg, mp 225~227°C, 收率 13%, UV  $\lambda_{max}^{EtOH}$  274 nm,  $\lambda_{min}^{EtOH}$  246 nm,  $\lambda_{min}$  (0.1 mol·L<sup>-1</sup> HCl) 238 nm。同法制得化合物 **6**。

### 2 1-(2-甲基烯丙基)胞嘧啶(**7**)

胞嘧啶 0.387 g (3 mmol) 溶于 DMF 15 ml 中, 室温搅拌下加入无水  $K_2CO_3$  0.622 g (4.5 mmol), 搅拌 0.5 h, 滴加溶有 3-氯-2-甲基丙烯 0.297 g (3 mmol) 的 DMF 溶液 5 ml, 滴毕, 室温搅拌 24 h, 过滤, 滤饼与水 50 ml 搅拌, 过滤, 得白色粉末 **7**, 重 0.258 g。滤液浓缩至干, 薄层层析分离, 又得化合物 **7** 20 mg, mp 240°C (dec), 收率 59.02%。

### 3 1-(2-甲基烯丙基)-5-溴尿嘧啶(**8a**)

5-溴尿嘧啶 0.191 g (1 mmol) 溶于 DMF 15 ml 中, 加入 NaH 0.03 g (1.3 mmol), 室温搅拌 10 min, 加入 3-氯-2-甲基丙烯 0.18 g (1 mmol), 反应 16 h, 过滤, 滤液减压浓缩至干, 得黄色油状物, 无水乙醚研磨, 得粉状固体 **8a**, 重 0.221 g, 收率 90.2%。同法制得化合物 **8b**。

### 4 9-(2-甲基-2,3-双羟丙基)腺嘌呤(**1**)

丙酮与水的混合溶剂 (10:1) 10 ml, 加入 *N*-甲基吗林-*N*-氧化物 87.5 mg (0.75 mmol),  $OsO_4$  的  $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$  甲苯溶液 0.1 ml 和化合物 **5a** 94.5 mg (0.5 mmol), 室温搅拌, TLC 跟踪反应至完全, 过滤, 滤液减压浓缩至 1 ml 左右, 用制备薄层分离, 得白色粉晶 **1**, 重 30 mg, mp 200~203°C。收率 42.4%。同法制得化合物 **2**, **4a**, **4b**。

### 5 1-(2-甲基-2,3-双羟丙基)胞嘧啶(**3**)

*N*-甲基吗林-*N*-氧化物 87.5 mg (0.75 mmol) 加入丙酮与水的混合溶剂 (10:1), 在搅拌下加入溶有 10 ml  $OsO_4$  的甲苯溶液 ( $0.25 \text{ mol} \cdot \text{L}^{-1}$ ) 0.1 ml, 将化合物 **7** 82.5 mg (0.5 mmol) 加入上述溶液中, 室温搅拌 2 h, 过滤, 得白色结晶 **3** 64 mg, mp 264~266°C, 收率 64.3%。

### 6 *s*-腺苷高半胱氨酸水解酶的提取

取雌 Wistar 大鼠 (140~150 g) 肝, 用预冷的  $10 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  pH 7.6 磷酸钾缓冲液 (含  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  DTT,  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$  EDTA) 2 倍于肝脏体积制成匀浆。于 4°C 用  $12000 \times g$  离心 30 min, 取上清液。再于 4°C  $100000 \times g$  离心 60 min。上清液先用 38%  $(NH_4)_2SO_4$  沉淀, 于 4°C,  $14000 \times g$  离心后, 弃上清, 沉淀用相同的缓冲液溶解, 为酶的粗提品, -70°C 保存。

### 7 *s*-腺苷高半胱氨酸水解酶活性测定

酶活性测定用合成反应, 反应系统含有 pH 7.6 磷酸钾缓冲液  $120 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 二硫苏糖醇 (DTT)  $2 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , EDTA  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ , 高半胱氨酸  $1 \text{ mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ,  $^3H$  腺苷 (比活性  $2.2 \text{ Ci} / \text{mmol} \cdot \text{L}^{-1}$ ), 总体积为  $40 \mu\text{l}$ , 37°C 水浴反应 1 min, 95°C 水浴反应 2 min, 取出, 放冰浴, 加腺苷, 肌苷及 *s*-腺苷高半胱氨酸标准后, 取样点于

硅胶铝板,薄层分离[正丁醇—醋酸—水(12:3:5)],在紫外灯下确定 *s*-腺苷高半胱氨酸位置,剪下测 cpm 值。根据 cpm 值,用 Reed and Muench 方法计算 IC<sub>50</sub> 值。所测定的 4 个化合物中,化合物 **1** 的 IC<sub>50</sub> 为 1.1 mmol·L<sup>-1</sup>,其它均大于 1.0 mmol·L<sup>-1</sup>。

致谢 本所分析室代测元素分析;仪器分析室代测 IR,<sup>1</sup>HNMR,MS,UV。

### 参 考 文 献

- Holy A. Nucleic acid components and their analogs CLXXII aliphatic analogs nucleotides and oligonucleotides. *Collect Czech Chem Commun*, 1975, **40**:187
- Declercq E, Descamps J, Somer DP, *et al.* (*s*)-9-(2, 3-Dihydroxypropyl) adenine: an aliphatic nucleoside analog with broad-spectrum antiviral activity. *Science*, 1978, **200**:563
- Votraba I, Holy A. Inhibition of *s*-adenosyl-*L*-homocysteine hydrolase by the aliphatic nucleoside analog (*s*)-9-(2, 3-dihydroxypropyl)adenine. *Collect Czech Chem Commun*, 1980, **45**:3039
- Declercq E, Holy A. Antiviral activity of aliphatic nucleosides and analogs: structure-function relationship. *J Med Chem*, 1979, **22**:510
- Hentges SG, Sharpless KB. Asymmetric induction in the reaction of osmium tetroxide with olefins. *J Am Chem Soc*, 1980, **102**:4263
- Leonard NJ, Deyru JA. The chemistry of triacanthine. *J Am Chem Soc*, 1962, **84**:2148

## SYNTHESIS OF *S*-9-(2,3-DIHYDROXYPROPYL)ADENINE (DHPA) ANALOGS AND THEIR INHIBITION OF *S*-ADENOSYL-*L*-HOMOCYSTEINE (SAH) HYDROLASE

GX Wang, L Wang, ZZ Zhao, T Zhang\* and PZ Tao\*

(*Institute of Materia Medica, and \* Institute of Medicinal Biotechnology, Chinese Academy of Medical Sciences and Peking Union Medical College, Beijing 100050*)

**ABSTRACT** In order to search for new antiviral agents with high potency and low toxicity, eleven new acyclonucleosides were synthesized. Nucleic-acid bases were condensed with 3-chloro-2-methylpropene to give **5 ~ 8a, b**, which were oxidized by *N*-methylmorpholine-*N*-oxide in the presence of OsO<sub>4</sub> to give vicinal dihydroxy acyclonucleosides **1 ~ 4a, b**. Four DHPA analogs have been tested for the inhibitory activities on *s*-adenosyl-*L*-homocysteine hydrolase (SAH). Only compound **1** showed some enzyme inhibitory effect with IC<sub>50</sub> of 1.1 mmol·L<sup>-1</sup>.

**KEY WORDS** *S*-adenosyl-*L*-homocysteine hydrolase; Acyclonucleosides; Antiviral agents