



УДК 547.753/547.857:543.42

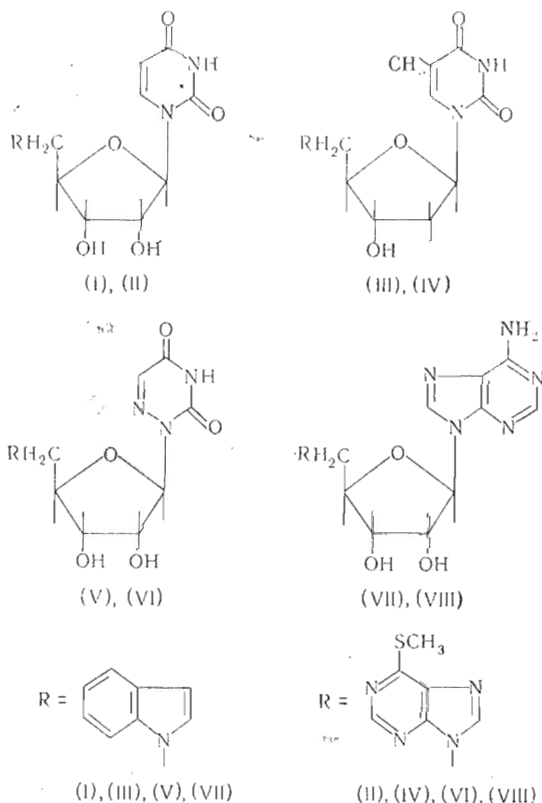
УФ- И КД-СПЕКТРЫ 5'-(1-ИНДОЛИЛ)-
И 5'-(6-МЕТИЛМЕРКАПТО-9-ПУРИНИЛ)-5'-ДЕЗОКСИНУКЛЕОЗИДОВ*Уткина Е. А., Мельник С. Я., Преображенская М. Н.,
Суворов Н. Н.**Институт экспериментальной и клинической онкологии
Академии медицинских наук СССР, Москва**Московский химико-технологический институт
им. Д. И. Менделеева*

Спектры УФ и КД ряда 5'-(1-индолил)- и 5'-(6-метилмеркапто-9-пуринил)-5'-дезоксинуклеозидов («двуголовых» нуклеозидов) изучены в сравнении со спектральными характеристиками эквимольной смеси соответствующих незамещенных нуклеозидов и индола или 6-метилмеркаптопурина. Предположено существование в «двуголовых» нуклеозидах нековалентных взаимодействий между гетероциклическими ядрами.

В последние годы показано, что некоторые модифицированные нуклеозиды, не имеющие первичной оксигруппы и не способные образовывать соответствующие 5'-фосфаты, тем не менее являются ингибиторами нуклеинового обмена и обладают противоопухолевой или противовирусной активностью [1, 2]. Особый интерес при поиске потенциальных противоопухолевых или противовирусных веществ представляют такие производные 5'-дезоксинуклеозидов, которые содержат в положении 5' группировки, способные к взаимодействию с компонентами нуклеиновых кислот. Известна способность производных индола к нековалентным взаимодействиям с нуклеиновыми основаниями, в частности с образованием комплексов с переносом заряда (КПЗ) [3]. Интерес к производным 6-метилмеркаптопурина стимулируется данными о высокой противоопухолевой активности его рибозида [4]. В связи с вышеизложенным нами были изучены производные нуклеозидов, содержащие ядро индола (I), (III), (V), (VII) или 6-метилмеркаптопурина (II), (IV), (VI), (VIII).

Ранее [5, 6] был осуществлен синтез 5'-(9-аденил)-2',5'-дидезоксиаденозина (IX), 5'-(9-аденил)-5'-дезокситимидина (X), 5'-(1-тимил)-5'-дезокситимидина и 5'-(1-тимил)-2',5'-дидезоксиаденозина [6]. Было высказано предположение о существовании нековалентных взаимодействий между ядрами нуклеиновых оснований в молекуле «двуголовых» нуклеозидов [5].

Из спектров ПМР изученных нами «двуголовых» нуклеозидов, а также из рассмотрения их молекулярных моделей следует, что наиболее вероятным является некопланарное взаимное расположение гетероциклических ядер в молекуле. Расстояние наиболее приближенной части нуклеинового



основания — фрагмента C_6-H пиримидинового ядра в 5'-(1-индолил)-5'-дезокситимидине (I) и 5'-(1-индолил)-5'-дезокситимидине (III) — от плоскости индольного цикла превышает $3,2 \text{ \AA}$, а расстояние от центра копуса магнитного экранирования, создаваемого кольцевым током индола, превышает $2,1 \text{ \AA}$ [7]. Тем не менее не исключается возможность существования нековалентных взаимодействий между гетероциклическими ядрами в замещенных нуклеозидах, в том числе образование КПЗ. Для изучения характера этих взаимодействий мы исследовали некоторые спектральные характеристики «двууголовых» нуклеозидов (I) — (VIII) и сопоставили их со спектрами соответствующих природных нуклеозидов и гетероциклических соединений.

УФ-спектры «двууголовых» нуклеозидов обусловлены двумя хромофорными группировками — нуклеиновым основанием и индолом или 6-метилмеркаптопурином. Не было отмечено появления дополнительного длинноволнового максимума, характерного для КПЗ [8]. Однако в спектрах замещенных нуклеозидов наблюдается уменьшение адсорбции УФ-света по сравнению со спектрами эквимольной смеси составляющих соединений в области максимумов поглощения. Процентная гипохромия при частоте длинноволнового максимума поглощения составляет 12—20% (см. табл. 1). Гипохромный эффект отмечен как при сопоставлении спектров «двууголовых» нуклеозидов со смесью незамещенных нуклеозидов и индола или 6-метилмеркаптопурина, так и при сопоставлении со смесью незамещенных нуклеозидов и N-замещенных гетероциклических соединений. Гипохромный эффект описан для растворов динуклеозидов различного типа, полинуклеотидов и нуклеиновых кислот в воде [9]. Он отмечен также для ранее полученных «двууголовых» нуклеозидов (IX) и (X) в воде при pH 7 [5]. Для полинуклеотидов гипохромный эффект явля-

Таблица 1

УФ-спектры «двуголовых» нуклеозидов (I)–(VIII)

Соединение	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$\epsilon \cdot 10^{-3}$	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$\epsilon \cdot 10^{-3}$	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$\epsilon \cdot 10^{-3}$	h^* , % ($\lambda_{\text{макс}}$, нм)	Растворитель — спирт, %
(I)	263	13,5	292	4,0			12(263)	96
(II)**	284	18,2	292	17,9			14(284)	50
(III)	267	12,2	292	4,2			20(267)	96
(IV)	284	18,4	292	16,4			16(284)	50
(V)	265	8,7	291	3,8				96
(VI)	285	17,0	292	15,8				50
(VII)	260	15,8	290	3,3			16(260)	50
VIII)	263	18,0	285	14,4	293	14,2		ДМСО***

* Процентная гипохромия $h = \left(1 - \frac{\epsilon_{\text{Д}}(\lambda)}{\epsilon_{\text{М}}(\lambda)}\right) \cdot 100$, где $\epsilon_{\text{Д}}$, $\epsilon_{\text{М}}$ — молярные коэффициенты экстинкции «двуугового» нуклеозида и эквимольной смеси незамещенного нуклеозида и индола или 6-метилмеркаптопурина.

** Процентная гипохромия определялась при сопоставлении с эквимольной смесью уридина и 9- β -D-рибофуранозил-6-метилмеркаптопурина.

*** 50%-ный спирт — ДМСО, 9:1.

Таблица 2

Спектры КД «двуголовых» нуклеозидов (I)–(VIII) и соответствующих незамещенных нуклеозидов

Соединение	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$[\theta] \cdot 10^{-3}$	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$[\theta] \cdot 10^{-3}$	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$[\theta] \cdot 10^{-3}$	$\lambda_{\text{макс}}$, нм	$[\theta] \cdot 10^{-3}$	Растворитель — спирт, %
Уридин	242	-4,5	270	+8,9					96
(I)	245	-3,0	269	+7,8					96
(II)	250	-1,0	280	+7,6					50
Тимидин	241	-4,0	273	+8,8					96
(III)	245	-2,0	269	+5,5	286	-1,5	292	-3,5	96
(IV)	245—255	-3,0	285	+4,0					50
6-азауридин			263	-14,6					96
(V)			257	-17,0	287	+2,0	295	+3,0	96
(VI)			269	-19,2			301	+7,0	50
Аденозин			268	-3,3					50
(VII)	245	+0,8	270—280	+2,6					50
(VIII)	266	+8,3	290	-4,6					ДМСО(9:1)*

* 50%-ный спирт — ДМСО, (9:1).

ется свидетельством нековалентного взаимодействия оснований [9]. Поскольку в нашем случае спектры изучались в водном спирте, трудно говорить о стэкинг-взаимодействии гетероциклов в «двуголовых» нуклеозидах. По-видимому, строение этих соединений обеспечивает сближенное расположение гетероциклических ядер и в неполярных растворителях.

В спектрах флуоресценции индолсодержащих нуклеозидов (I), (III), (V) наблюдалось тушение флуоресценции индола при 330 нм, особенно выраженное для производных пиримидиновых нуклеозидов (I), (III), (V).

Спектры ДОВ и спектры КД нуклеозидов дают информацию об аномальной конфигурации этих соединений и их предпочтительной конформации [10]. Введение в молекулу нуклеозида дополнительного хромофора существенно влияет на характер кривых ДОВ и КД. Вследствие того, что амплитуда эффекта Коттона для пуриновых нуклеозидов меньше, чем для

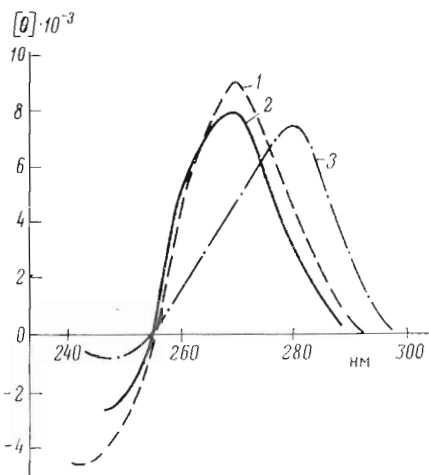


Рис. 1

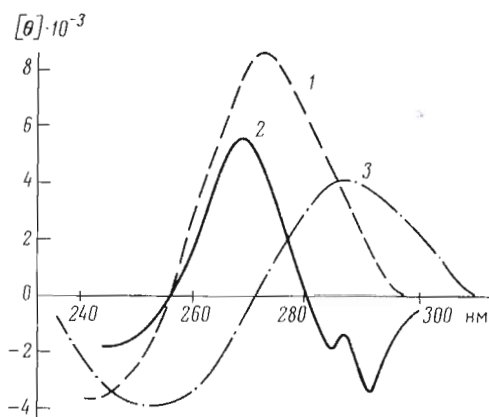


Рис. 2

Рис. 1. Спектры КД уридина (кривая 1) и его 5'-(1-индолил)-(I) (кривая 2) и 5'-(6-метилмеркапто-9-пуририл)-(II) (кривая 3) 5'-дезоксипроизводных

Рис. 2. Спектры КД тимидина (кривая 1) и его 5'-(1-индолил)-(III) (кривая 2) и 5'-(6-метилмеркапто-9-пуририл)-(IV) (кривая 3) 5'-дезоксипроизводных

пиримидиновых, спектры ДОВ и КД пуриновых нуклеозидов более чувствительны к изменениям в структуре, чем спектры пиримидиновых нуклеозидов. На примерах пуриновых нуклеозидов, содержащих в углеводном фрагменте хромофорные группы, было показано, что в этих случаях может изменяться характер кривых ДОВ и КД; по-видимому, эти изменения связаны, главным образом, не с изменением предпочтительной конформации нуклеозида, а с взаимодействием хромофорных групп [9, 10].

Были сняты спектры КД индолсодержащих «двуголовых» нуклеозидов (I), (III), (V). Положения максимумов и значения молекулярной эллиптичности представлены в табл. 2. В спектрах КД уридина и тимидина имеется положительный максимум при 270 нм и отрицательный — в области 240 нм. Предполагается, что они связаны с $\pi \rightarrow \pi^*$ -переходами в молекуле нуклеозидов (см. рис. 1 и 2). В КД-спектре 6-азауридина (рис. 3) наблюдается максимум в области 263 нм; изменение характера кривой КД связано с изменением конформации гликозидной связи и направления момента перехода [10—12]. Спектры КД индолсодержащих пиримидиновых нуклеозидов (I), (III), (V) в области 240—280 нм (рис. 1—3) близки спектрам КД соответствующих незамещенных нуклеозидов. Для 5'-индолилпроизводных уридина (I) и тимидина (III) отмечен основной положительный максимум в области 270 нм, для производного 6-азауридина (V) — отрицательный максимум при 257 нм. Однако для производного тимидина (III) и производного 6-азауридина (V) наблюдаются 2 новых максимума на кривых КД в области 285—300 нм. Для индолилтимидина (III) — это два отрицательных максимума, а для индолилзауридина (V) — два положительных. Известно, что для незамещенного уридина и тимидина в различных растворителях в этой области не отмечалось дополнительных максимумов; для 6-азауридина в воде при pH 9 отмечен слабый максимум при 297 нм, не соответствующий какой-либо полосе поглощения в УФ-свете [10, 12]. Высказано предположение, что этот дополнительный эффект возникает за счет $n \rightarrow \pi^*$ -перехода в молекуле нуклеозида. К сожалению, нам не удалось определить зависимость отмеченных эффектов от растворителей, так как изучаемые вещества плохо растворимы в полярных растворителях и нерастворимы в воде. Было

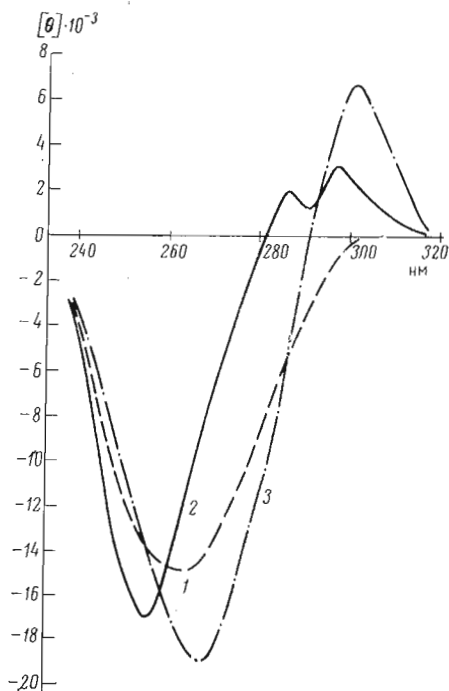


Рис. 3

Рис. 3. Спектры КД 6-азауридина (кривая 1) и его 5'-(1-индолил)-(V) (кривая 2) и 5'-(6-метилмеркапто-9-пуририл)-(VI) (кривая 3) 5'-дезоксипроизводных

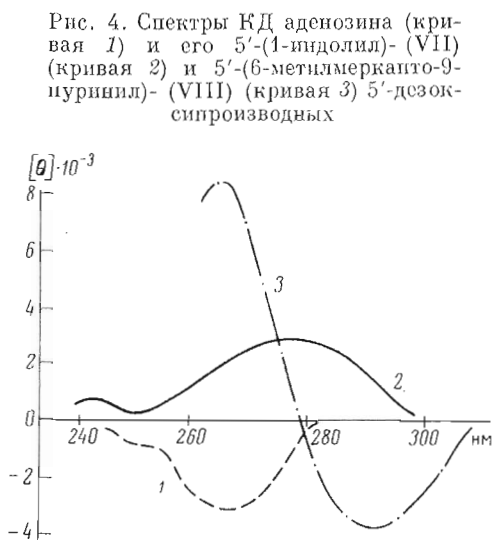


Рис. 4

Рис. 4. Спектры КД аденозина (кривая 1) и его 5'-(1-индолил)-(VII) (кривая 2) и 5'-(6-метилмеркапто-9-пуририл)-(VIII) (кривая 3) 5'-дезоксипроизводных

показано, что спектры КД «двуголовых» нуклеозидов (I), (III), (V) практически не меняются с изменением температуры в интервале от 4,4 до 70°.

Метилмеркаптопуринилуридин (II) имеет КД-спектр, близкий КД-спектру уридина (рис. 1), но основной максимум смещен на 10 нм в сторону длинных волн. КД-спектр метилмеркаптопуририлтимидина (IV) (рис. 2) по характеру близок КД-спектру тимидина, но имеет bathochromный сдвиг обоих максимумов (табл. 2). Метилмеркаптопуринилзауридин (VI) имеет КД-спектр, близкий КД-спектру 6-азауридина, но, как и в случае индолилазауридина (V), для этого соединения в области 300 нм отмечен сравнительно интенсивный положительный максимум (рис. 3).

Аденозин имеет спектр КД с отрицательным эффектом Коттона при сравнительно небольшом значении эллиптичности в области 270 нм (рис. 4). В КД-спектрах «двуголовых» аденозинов (VII) и (VIII) наблюдаются положительные максимумы в области 260—280 нм; кроме того, для метилмеркаптопуринилладенозина (VIII) отмечен отрицательный эффект Коттона при 290 нм. Строгое сравнение с аденозином возможно только для индолиладенозина (VII), так как спектр соединения (VIII) снят с добавлением диметилсульфоксида (ДМСО); тем не менее очевидно, что имеет место обращение знака максимума для производных аденозина (VII) и (VIII) в области 260—280 нм, поскольку известно, что аденозин сохраняет отрицательный максимум кривой КД при переходе от воды к ДМСО [13].

Ранее Шенюм и соавт. [5] были изучены спектры КД «двуголовых» нуклеозидов — 5'-(9-аденил)-2',5'-дидезоксиаденозина (IX) и 5'-(9-аденил)-5'-дезокситимидина (X) [5]. Эти соединения имеют положительный и отрицательный максимумы на кривых КД в области УФ-поглощения. Характер кривой спектра КД метилмеркаптопуринилладенозина (VIII) близок КД-спектру адениладенозина (IX) в области 240—290 нм. Было высказано предположение, что, как и в случае динуклеотидов, изменение

знака максимума спектра КД по сравнению с аденозином в «двуголовых» аденинсодержащих нуклеозидах свидетельствует о нековалентном взаимодействии между гетероциклическими ядрами в молекуле [5].

По-видимому, в случае индол- или метилмеркаптопуринсодержащих «двуголовых» нуклеозидов спектры КД и УФ также свидетельствуют о нековалентном взаимодействии между гетероциклическими ядрами в молекуле. Поскольку эти эффекты, обычно наблюдаемые в воде, в нашем случае проявляются и в водном спирте, и в водном ДМСО и не исчезают при нагревании, можно полагать, что такого рода взаимодействия возможны в достаточно широком наборе конформационных состояний со сближенными положениями гетероциклических заместителей.

Экспериментальная часть

О получении «двуголовых» нуклеозидов см. сообщения [7, 14—16]. УФ-спектры сняты на регистрирующем спектрофотометре «Unicam» SP-800 (Англия), растворители приведены в табл. 1, толщина кюветы 1 см. Концентрацию раствора для расчета молярной экстинкции определяли по навеске, взятой на микроаналитических весах с точностью 1%. Спектры КД сняты на дихрографе «Roussel Jouan» II (Франция) при концентрациях растворов $0,5-1 \cdot 10^{-4}$ моль/л и температуре растворов 23—26°, толщина кюветы 2 см; растворители приведены в табл. 2 и в подписях к рисункам. Различия в растворимости «двуголовых» нуклеозидов не позволили снять спектры в строго сопоставимых условиях. Температурная зависимость спектров КД снята на спектрополяриметре «Cary-60» (США) с приставкой для получения кривых КД «Cary-6001», толщина кюветы 1 см. Спектры флуоресценции сняты на приборе «Hitachi» SPF-MPF-2a (Япония), λ возбуждения 270 нм, растворитель — 96%-ный спирт (соединения (I), (III), (V)) и 50%-ный спирт (соединение (VII)) при концентрации растворов $0,6 \cdot 10^{-5}$ моль/л.

ЛИТЕРАТУРА

1. Langen P., Kowolik G. (1968) *Europ. J. Biochem.*, **6**, 344—351.
2. Shen T. Y. (1970) *Angew. Chem. (Int. Ed.)* **9**, 678—692.
3. Green J. P., Malrieu J. P. (1965) *Proc. Nat. Acad. Sci. U. S. A.*, **54**, 659—664.
4. Преображенская М. Н. (1973) *ЖВХО им. Д. И. Менделеева*, **18**, 643—656.
5. Fecher R., Boswell K. H., Wittick J. J., Shen T. Y. (1970) *J. Amer. Chem. Soc.*, **92**, 1400—1402.
6. Logue M. W., Leonard N. J. (1972) *J. Amer. Chem. Soc.*, **94**, 2842—2846.
7. Преображенская М. Н., Мельник С. Я., Уткина Е. А., Соколова Е. Г., Суворов Н. Н. (1974) *Ж. общ. химии*, **10**, 863—868.
8. Mulliken R. S. (1952) *J. Amer. Chem. Soc.*, **74**, 811—824.
9. Кочетков Н. К., Будовский Э. И., Свердлов Е. Д., Симукова, Н. А. Турчинский М. Ф., Шибасв В. Н. (1970). *Органическая химия нуклеиновых кислот*, стр. 236—242, «Химия», Москва.
10. Ulbricht T. L. V. (1973) in *Synthetic Procedures in Nucleic Acid Chemistry* (Zorbach W. W., Tipson R. S., eds), vol. 2 pp. 177—214, Wiley — Interscience, N. Y.
11. Pullman B., Berthold H. (1972) *FEBS Lett.*, **20**, 341—343.
12. Rogers G. T., Ulbricht T. L. V. (1971) *Eur. J. Biochem.*, **22**, 457—466.
13. Ingwall J. S. (1972) *J. Amer. Chem. Soc.*, **94**, 5487—5495.
14. Преображенская М. Н., Мельник С. Я., Уткина Е. А., Соколова Е. Г., Суворов Н. Н. (1973) *Ж. общ. химии*, **9**, 2207—2208.
15. Уткина Е. А., Мельник С. Я., Преображенская М. Н., Суворов Н. Н. (1975) *Ж. общ. химии*, **11**, 194—197.
16. Уткина Е. А., Мельник С. Я., Преображенская М. Н., Суворов Н. Н. (1975) *Ж. общ. химии*, **11**, 910—911.

Поступила в редакцию
5.III.1975

UV AND CD SPECTRA OF 5'-(1-INDOLYL) AND
5'-(6-METHYLMERCAPTO-9-PURINYL)-5'-DEOXYNUCLEOSIDES

UTKINA E. A., MELNIK S. Ya., PREOBRAZHENSKAYA M. N.,
SUVOROV N. N.

*Institute of Experimental and Clinical Oncology, Academy of
Medical Sciences of the USSR, Moscow, D. I. Mendeleev Institute
for Chemical Technology, Moscow*

The UV, CD and fluorescence spectra of the following «two-headed» nucleosides have been studied: 5'-(1-indolyl)-5'-deoxyuridine (I), 5'-(6-methylmercapto-9-purinyl)-5'-deoxyuridine (II), 5'-(1-indolyl)-5'-deoxythymidine (III), 5'-(6-methylmercapto-9-purinyl)-5'-deoxythymidine (IV), 5'-(1-indolyl)-5'-deoxy-6-azauridine (V), 5'-(6-methylmercapto-9-purinyl)-5'-deoxy-6-azauridine (VI), 5'-(1-indolyl)-5'-deoxyadenosine (VII), 5'-(6-methylmercapto-9-purinyl)-5'-deoxyadenosine (VIII). A decreased absorption at the maximum was observed in the UV-spectra of compounds (I)–(VIII) when compared with those of unsubstituted nucleosides and indole or 6-methylmercaptapurine. The CD spectra of derivatives of 6-azauridine (V), (VI) and thymidine (III) show an additional maximum at 285-300 nm in comparison with those of corresponding nucleosides. The CD spectra of compounds (VII) and (VIII) markedly differ from the CD spectrum of adenosine. The fluorescence spectra of indole derivatives (I), (III), (V), (VII) show quenching of indole fluorescence at 330 nm. Non-covalent interaction between heterocyclic rings in the molecule of «two-headed» nucleoside has been suggested.
