



УДК 547.415.057

НОВЫЙ СИНТЕЗ  $\alpha$ -МЕТИЛ- И  $\alpha,\alpha'$ -ДИМЕТИЛСПЕРМИНА© 2005 г. Н. А. Григоренко\*, Й. Вепсалайнен\*\*, А. Ярвинен\*\*\*, Т. А. Кейнанен\*\*\*,  
Л. Алхонен\*\*\*, Ю. Янне\*\*\*, А. Р. Хомутов\*#\*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,  
119991, Москва, ГСП-1, ул. Вавилова, 32;

\*\*Департамент химии, Университет г. Куопио, Куопио, Финляндия;

\*\*\*Центр наук о молекулах им. А.И. Виртанена, Куопио, Финляндия

Поступила в редакцию 08.04.2004 г. Принята к печати 14.05.2004 г.

Для исследования биохимических превращений полиаминов *in vitro* и *in vivo* синтезированы  $\alpha$ -метилспермин и  $\alpha,\alpha'$ -диметилспермин с высокими суммарными выходами, исходя из *N*-(бензилоксикарбонил)-3-аминобутанола.

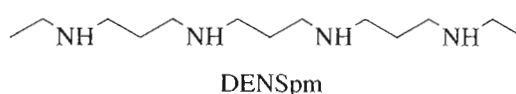
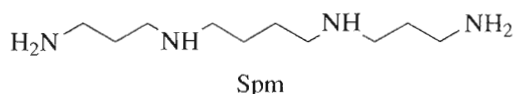
Ключевые слова: полиамины;  $\alpha$ -метилспермин;  $\alpha,\alpha'$ -диметилспермин; спермидин/спермин-*N*<sup>1</sup>-ацетилтрансфераза.

## ВВЕДЕНИЕ

Алкильные производные спермина (Spm) и спермидина (Spd) широко используются для регулирования активности ферментов метаболизма полиаминов и изучения функций Spm и Spd, которые присутствуют в значительных количествах во всех типах клеток и необходимы для их нормального роста. Известны две группы таких аналогов, отличающиеся положением алкильного заместителя. Наиболее изученная из них включа-

ет в себя симметричные, например, диэтилнорспермин (DENSpm), и несимметричные терминально бис-*N,N'*-алкилированные производные Spm и его гомологов.

Эти соединения, подобно Spm и Spd, активно транспортируются в клетки, однако они не способны выполнять жизненно важные функции полиаминов. Накопление DENSpm или подобных ему веществ вызывает индукцию Spd/Spm-*N*<sup>1</sup>-ацетилтрансферазы (SSAT, КФ 2.3.1.57), которая катализирует ключевую реакцию катаболизма полиаминов.



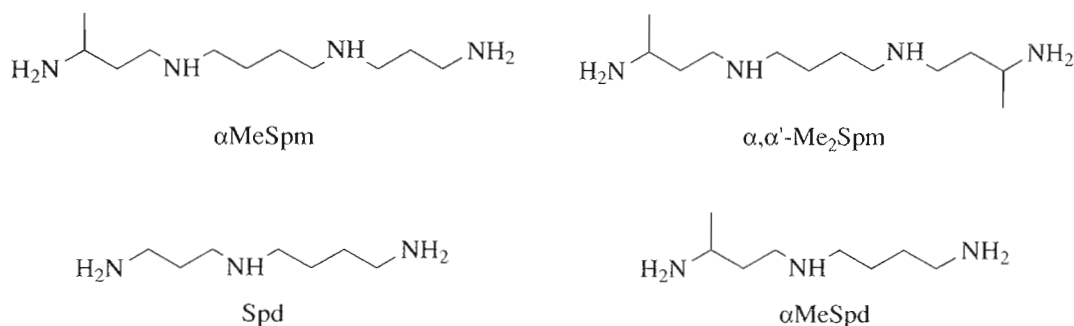
Последующее окисление *N*<sup>1</sup>-Ас-спермина в Spd и *N*<sup>1</sup>-Ас-спермидина в путресцин приводит к истощению пула Spm и Spd и ингибированию роста клеток (см. обзоры [1, 2]).

Вторую, менее изученную группу алкильных производных полиаминов составляют *C*-за-

менные аналоги [3–5]. Некоторые из этих веществ, например  $\alpha$ MeSpm,  $\alpha,\alpha'$ -Me<sub>2</sub>Spm,  $\alpha$ MeSpd, в отличие от *N*-алкильных производных (см. выше) и подобно Spm и Spd, способны поддерживать рост клеток, в которых концентрация полиаминов понижена [3, 4]. Показано, что  $\alpha$ -метилполиамины не являются субстратами SSAT, что обеспечивает их метаболическую устойчивость [3], но в то же время они, подобно Spm и Spd, способны индуцировать биосинтез этого фермента [6].  $\alpha$ MeSpd,  $\alpha$ MeSpm и  $\alpha,\alpha'$ -Me<sub>2</sub>Spm взаимодействуют с ДНК аналогично природным полиамиям [7], а  $\alpha$ MeSpd, кроме того, является субстратом дезокси-гипузинсинтазы, обеспечивающей посттрансляционную модификацию фактора инициации eIF-5A, необходимую для нормального функционирования рибосом [8]. Недавно мы показали, что

Сокращения: DENSpm – диэтилнорспермин (3,7,11,15-тетразагептадекан);  $\alpha,\alpha'$ -Me<sub>2</sub>Spm –  $\alpha,\alpha'$ -диметилспермин (2,13-диамино-5,10-дiazатетрадекан);  $\alpha$ MeSpd –  $\alpha$ -метилспермидин (1,8-диамино-5-азанонан);  $\alpha$ MeSpm –  $\alpha$ -метилспермин (1,12-диамино-4,9-дiazатридекан); Ms – метансульфонил; Ns – *o*-нитрофенилсульфонил; Put – путресцин (1,4-диаминобутан); Spd – спермидин (1,8-диамино-5-азаоктан); Spm – спермин (1,12-диамино-4,9-дiazадодекан); SSAT – спермидин/спермин-*N*<sup>1</sup>-ацетилтрансфераза.

#Автор для переписки (тел.: (095) 135-60-65; эл. почта: alexkhom@genome.eimb.relam.ru; факс: (095) 135-14-05).



$\alpha$ MeSpd способен предотвращать острый панкреатит, вызванный истощением пула полиаминов у трансгенных крыс в результате супериндукции SSAT [9]. Известно, что присутствие небольшого количества Spm существенно снижает значение концентрации Spd, необходимой для поддержания роста клеток с дефицитом полиаминов [10]. Весьма вероятно, что подобная закономерность сохранится и в случае  $\alpha$ -метильных производных Spm и Spd. В этом случае использование катаболически устойчивых аналогов Spm, способных выполнять его основные клеточные функции, например  $\alpha$ MeSpm и  $\alpha, \alpha'$ -Me<sub>2</sub>Spm, должно привести к понижению действующей концентрации  $\alpha$ MeSpd.

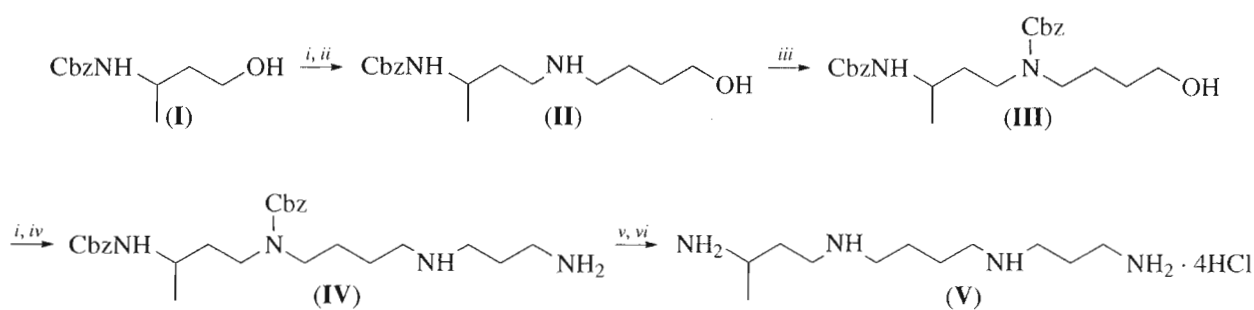
Несмотря на очевидную биохимическую значимость,  $\alpha$ -метильные аналоги Spm до сих пор остаются малодоступными соединениями. Недавно мы описали простой способ синтеза  $\alpha$ MeSpd [11], а в настоящей работе представлены удобные схемы получения  $\alpha$ MeSpm и  $\alpha, \alpha'$ -Me<sub>2</sub>Spm, позволяющие синтезировать их в количествах, необходи-

мых для изучения их метаболизма и биологических эффектов *in vitro* и *in vivo*.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Описанные в литературе методы синтеза  $\alpha$ MeSpm и  $\alpha, \alpha'$ -Me<sub>2</sub>Spm обладают существенными недостатками и позволяют получать целевые соединения в количестве нескольких десятков миллиграммов с низким суммарным выходом [3].

В настоящей работе для построения скелета  $\alpha$ MeSpm используется последовательное наращивание полиаминной цепи путем алкилирования соответствующих аминокомпонент мезилатами *N*-защищенных аминоспиртов (схема 1). Исходным соединением служил 3-Cbz-аминобутанол, который был приготовлен восстановлением этилового эфира 3-аминоасляной кислоты LiAlH<sub>4</sub> в THF с последующим *N*-карбобензоксипированием по методу, описанному нами ранее в синтезе  $\alpha$ MeSpd [11].



*i* – Ms-Cl/Et<sub>3</sub>N/CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; *ii* – H<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>)<sub>4</sub>OH/THF; *iii* – Cbz-Cl/H<sub>2</sub>O/NaHCO<sub>3</sub>; *iv* – H<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>/THF; *v* – H<sub>2</sub>/Pd; *vi* – HCl/MeOH.

Схема 1.

На первой стадии *N*-Cbz-спирт (I) обрабатывали мезилхлоридом, и полученный мезилат без дополнительной очистки вводили в реакцию с избытком 4-аминобутанола при 50°C, что приводило к аминоспирту (II), который очищали колоночной хроматографией на силикагеле. Вторичную аминогруппу соединения (II) карбобензоксипировали и

полностью *N*-защищенный аминоспирт (III) вновь обрабатывали мезилхлоридом. Взаимодействие полученного мезилата с избытком 1,3-диаминопропана в THF при +4°C (проведение реакции при 20°C заметно увеличивает количество побочных продуктов, затрудняющих очистку соединения (IV)) приводило к ди-*N*-Cbz-защищенному

$\alpha$ -метилпермину (**IV**), который также очищали колоночной хроматографией на силикагеле. После удаления Cbz-групп гидрированием над Pd-чернью при атмосферном давлении  $\alpha$ -MeSpm (**V**) был выделен в виде хорошо кристаллизующегося тетрагидрохлорида. Суммарный выход синтезированного таким способом  $\alpha$ -MeSpm составил 41%, считая на 3-Cbz-аминобутанол (**I**).

Описанная выше линейная стратегия синтеза малоэффективна для получения  $\alpha, \alpha'$ -Me<sub>2</sub>Spm. Симметрия молекулы целевого соединения позволила использовать конвергентный синтез (схема 2), ключевой стадией которого явилось алкилирование 3-Cbz-аминобутилбромидом *N, N'*-бис-*o*-нитрофенилсульфонильного (Ns) производного путресцина (**VII**).

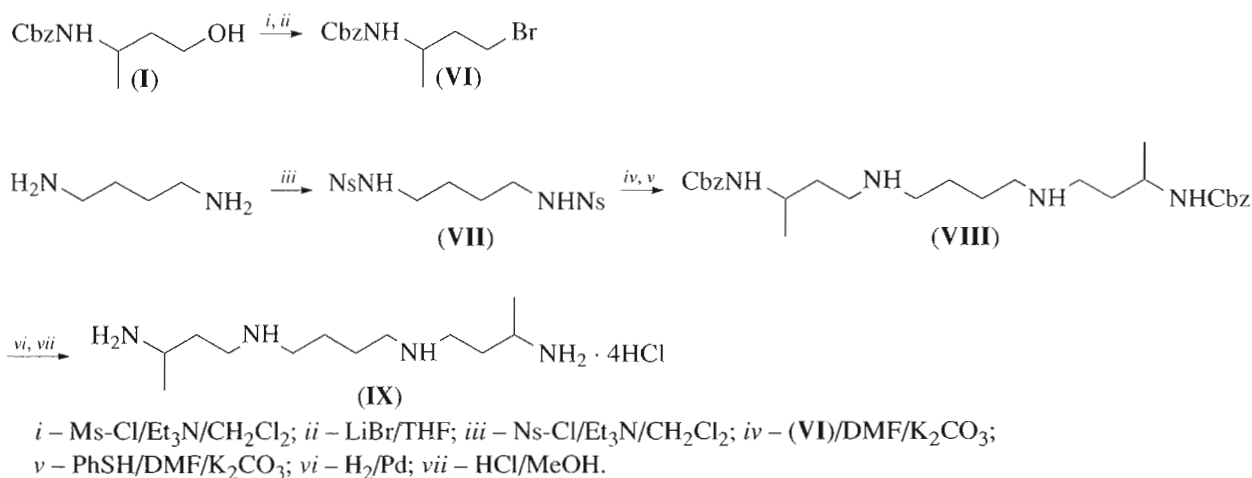


Схема 2.

Взаимодействием путресцина с 2.1 экв. Ns-Cl в присутствии Et<sub>3</sub>N получали биссульфамид (**VII**), который плохо растворим в большинстве органических растворителей, за исключением DMF и DMSO. Для получения бромида (**VI**) аминспирт (**I**) превращали в мезилат, который обрабатывали избытком бромида лития в THF. После отделения неорганических солей бромид (**VI**) без дополнительной очистки вводили в реакцию с сульфамидом (**VII**) в DMF в присутствии поташа, что позволило с высоким выходом провести алкилирование обеих первичных аминогрупп. Алкилирование соединения (**VII**) мезилатом или тозилатом спирта (**I**) приводит к искомому продукту лишь с низким выходом. Ns-группы удаляли с сохранением двух Cbz-групп обработкой тиофенолом и получали соединение (**VIII**), которое легко очищается хроматографией на силикагеле. На последней стадии синтеза Cbz-группы удаляли гидрированием над Pd-чернью при атмосферном давлении и полученный  $\alpha, \alpha'$ -Me<sub>2</sub>Spm (**IX**) выделяли в виде тетрагидрохлорида. Суммарный выход составил 57%, считая на 3-Cbz-аминобутанол.

Таким образом, описанные в настоящей работе схемы синтеза позволяют получать  $\alpha$ -MeSpm и  $\alpha, \alpha'$ -Me<sub>2</sub>Spm с высоким суммарным выходом и чистотой более 99% (по данным ВЭЖХ, в стандартных условиях анализа полиаминов [12]). Предлагаемые схемы синтезов пригодны и для получения неизвестных

(*R*)- и (*S*)-изомеров  $\alpha$ -MeSpm и  $\alpha, \alpha'$ -Me<sub>2</sub>Spm, которые могли бы проявлять различную биологическую активность.

## ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали этиловый эфир  $\beta$ -амино-масляной кислоты, 1,4-диаминобутан, Ns-Cl (Aldrich), Cbz-Cl, Ms-Cl, 4-аминобутанол, 1,3-диаминопропан (Fluka), LiAlH<sub>4</sub> (Sigma). 3-Cbz-аминобутанол получали согласно работе [11]. ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck) в системах: CHCl<sub>3</sub> (А); CHCl<sub>3</sub>-MeOH, 200 : 1 (Б); CHCl<sub>3</sub>-MeOH, 97 : 3 (В); CHCl<sub>3</sub>-MeOH, 9 : 1 (Г); диоксан-25% NH<sub>4</sub>OH, 97 : 3 (Д); диоксан-25% NH<sub>4</sub>OH, 9 : 1 (Е); *n*-BuOH-АсОН-пиридин-H<sub>2</sub>O, 4 : 2 : 1 : 2 (Ж). Колоночную хроматографию выполняли на силикагеле Kieselgel (40–63 мкм, Merck). Вещества на хроматограммах обнаруживали по УФ-поглощению и цветной реакцией с нингидрином.

Спектры ЯМР регистрировали на приборе Bruker Avance 500 DRX (Германия), в качестве внутреннего стандарта использовали Me<sub>4</sub>Si (CDCl<sub>3</sub>) и натриевую соль 3-триметилсилилпропансульфонокислоты (D<sub>2</sub>O). Химические сдвиги приведены в миллионных долях, а КССВ – в герцах.

**8-(Бензилоксикарбонил)амино-5-азанонол (II).** К охлажденному до 0°C раствору 3.34 г (15 ммоль) 3-Cbz-аминобутанола (**I**) и 2.61 мл (19 ммоль) Et<sub>3</sub>N

в 40 мл абс.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  прибавляли при перемешивании в течение 15 мин раствор 1.24 мл (16 ммоль)  $\text{Ms-Cl}$  в 10 мл абс.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  и оставляли перемешиваться еще 1 ч при  $0^\circ\text{C}$  и 1 ч при комнатной температуре. К реакционной смеси прибавляли 25 мл 1 М раствора  $\text{NaHCO}_3$ , органическую фазу отделяли, промывали последовательно  $\text{H}_2\text{O}$  (10 мл), 0.5 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $3 \times 25$  мл),  $\text{H}_2\text{O}$  (10 мл), 1 М  $\text{NaHCO}_3$  (20 мл), насыщ.  $\text{NaCl}$  (10 мл), сушили  $\text{MgSO}_4$  и упаривали в вакууме досуха. К остатку в 20 мл абс.  $\text{THF}$  прибавляли в один прием раствор 8.9 г (100 ммоль) 4-аминобутанола в 10 мл абс.  $\text{THF}$  и оставляли на ночь при  $50^\circ\text{C}$ . Избыток 4-аминобутанола отгоняли в вакууме, остаток растворяли в 20 мл 1 М  $\text{NaOH}$ , экстрагировали  $\text{CHCl}_3$  (25 мл), объединенные вытяжки упаривали в вакууме досуха, а остаток растворяли в смеси (Д) и делили на три части, каждую из которых очищали на колонке с  $\text{SiO}_2$  (135 г), элюируя смесью (Д). Растворитель упаривали в вакууме, остаток высушивали в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$  и получали 3.22 г (73%) аминспирта (II) в виде густого масла;  $R_f$  0.45 (Е).  $^1\text{H-ЯМР}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 7.40–7.29 (5 H, м,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 5.09 (2 H, с,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 5.03 (0.5 H, с,  $\text{NHCBz}$ ); 5.01 (с, 0.5H,  $\text{NHCBz}$ ); 3.85–3.77 (1 H, м,  $\text{CH}_2\text{CH}$ ); 3.57 (2 H, т,  $J$  6.32,  $\text{CH}_2\text{OH}$ ); 2.70–2.55 (4 H, м,  $\text{CH}_2\text{NHCH}_2$ ); 1.76–1.51 (8 H, м,  $\text{NH} + \text{OH} + \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NHCBz} + \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 1.18 (3 H, д,  $J$  6.54,  $\text{CH}_3$ ).

**$N^5, N^8$ -Бис(бензилоксикарбонил)-8-амино-5-азаноланол (III).** К охлажденному до  $0^\circ\text{C}$  раствору 2.94 г (10 ммоль) соединения (II) в смеси 10 мл  $\text{THF}$ , 5 мл  $\text{H}_2\text{O}$ , 0.6 мл (6 ммоль) 10 М  $\text{NaOH}$  и 0.84 г (10 ммоль)  $\text{NaHCO}_3$  при перемешивании прибавляли 1.55 мл (11 ммоль)  $\text{Cbz-Cl}$  в 3 порции с интервалом 15 мин. Затем перемешивали 1 ч при  $0^\circ\text{C}$  и 3 ч при комнатной температуре, водную фазу отделяли, экстрагировали  $\text{CHCl}_3$  (15 мл) и объединенные органические вытяжки упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в 30 мл  $\text{CHCl}_3$  и промывали последовательно 0.5 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $2 \times 10$  мл),  $\text{H}_2\text{O}$  (15 мл), 1 М  $\text{NaHCO}_3$  ( $2 \times 10$  мл), сушили  $\text{MgSO}_4$  и упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в  $\text{CHCl}_3$  и делили на две части, каждую из которых очищали на колонке с  $\text{SiO}_2$  (120 г), элюируя сначала смесью  $\text{CHCl}_3$ – $\text{MeOH}$ , 200 : 1, а затем смесью  $\text{CHCl}_3$ – $\text{MeOH}$ , 95 : 5. Растворитель упаривали в вакууме, остаток высушивали в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$  и получали 3.94 г (92%) защищенного аминспирта (III) в виде бесцветного густого масла;  $R_f$  0.27 (В).  $^1\text{H-ЯМР}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 7.34–7.27 (10 H, м,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 5.11 (2 H, с,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 5.07 (2 H, с,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 4.96 (0.5 H, с,  $\text{NHCBz}$ ); 4.57 (0.5 H, с,  $\text{NHCBz}$ ); 3.73–3.55 (3 H, м,  $\text{CH}_3\text{CH} + \text{CH}_2\text{OH}$ ); 3.30–3.18 (4 H, м,  $\text{CH}_2\text{N}(\text{Cbz})\text{CH}_2$ ); 1.75–1.45 (7 H, м,  $\text{OH} + \text{CH}_2\text{CH}(\text{CH}_3)\text{NHCBz} + \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 1.17–1.10 (3 H, м,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-ЯМР}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 156.16; 155.90; 136.82; 128.52; 128.07; 128.00; 127.85; 67.07; 66.59; 62.33; 47.44; 45.41; 44.78; 44.34; 36.22; 35.13; 29.66; 25.02; 24.70; 21.32.

**$N^9, N^{12}$ -Бис(бензилоксикарбонил)-1,12-диамино-4,9-дiazатридекан (IV).** К охлажденному до  $0^\circ\text{C}$  раствору 3.85 г (9 ммоль) соединения (III) и 1.53 мл (11 ммоль)  $\text{Et}_3\text{N}$  в 20 мл абс.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  прибавляли при перемешивании в течение 10 мин раствор 0.77 мл (10 ммоль)  $\text{Ms-Cl}$  в 5 мл абс.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$ , затем перемешивали еще 1 ч при  $0^\circ\text{C}$  и 30 мин при комнатной температуре. К реакционной смеси прибавляли 20 мл 1 М раствора  $\text{NaHCO}_3$ , органическую фазу отделяли, промывали последовательно  $\text{H}_2\text{O}$  (10 мл), 0.5 М  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $3 \times 15$  мл),  $\text{H}_2\text{O}$  (10 мл), 1 М  $\text{NaHCO}_3$  (10 мл), насыщ.  $\text{NaCl}$  (10 мл), сушили  $\text{MgSO}_4$  и упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в 15 мл абс.  $\text{THF}$ , охлаждали до  $0^\circ\text{C}$  и к полученному раствору прибавляли 6.66 г (90 ммоль) 1,3-диаминопропана в 5 мл абс.  $\text{THF}$ . Реакционную смесь выдерживали 6 ч при  $0^\circ\text{C}$ , оставляли на ночь при комнатной температуре, затем растворитель и избыток 1,3-диаминопропана отгоняли в вакууме. Остаток растворяли в 15 мл 1 М  $\text{NaOH}$ , экстрагировали  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  (15 мл), органическую фазу упаривали в вакууме, остаток растворяли в смеси диоксан–25%  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 94 : 6, и раствор делили на две части, каждую из которых очищали на колонке с  $\text{SiO}_2$  (135 г), элюируя смесью диоксан–25%  $\text{NH}_4\text{OH}$ , 94 : 6. Растворитель упаривали в вакууме досуха, остаток высушивали в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$  и получали 3.05 г (70%) диамина (IV) в виде густого масла;  $R_f$  0.25 (Д).  $^1\text{H-ЯМР}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 7.34–7.29 (10 H, м,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 5.10 (2 H, с,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 5.07 (2 H, с,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 4.79 (1 H, с,  $\text{NHCBz}$ ); 3.35–3.20 (5 H, м,  $\text{CH}_3\text{CH} + \text{CH}_2\text{N}(\text{Cbz})\text{CH}_2$ ); 2.73 (2 H, т,  $J$  6.75,  $\text{CH}_2\text{NH}_2$ ); 2.66–2.53 (4 H, м,  $\text{CH}_2\text{NHCH}_2$ ); 1.70–1.35 (11 H, м,  $\text{NH} + \text{NH}_2 + \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH} + \text{CbzNHCHCH}_2 + \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 1.16–1.10 (3 H, м,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C-ЯМР}$  ( $\text{CDCl}_3$ ): 155.85; 136.88; 136.70; 128.48; 128.02; 127.92; 127.79; 67.07; 66.96; 66.48; 49.63; 47.85; 47.62; 47.17; 45.37; 44.77; 44.32; 40.54; 36.20; 35.06; 33.77; 27.25; 26.48; 25.95; 21.33.

**Тетрагидрохлорид 1,12-диамино-4,9-дiazатридекана,  $\alpha\text{MeSprn}$  (V).** К раствору 3.0 г (6.2 ммоль) соединения (IV) в 30 мл смеси  $\text{AcOH}$ – $\text{MeOH}$ , 1 : 1 прибавляли 0.9 мл суспензии  $\text{Pd}$ -черни в  $\text{MeOH}$  и гидрировали при атмосферном давлении до прекращения выделения  $\text{CO}_2$  (около 4 ч). Катализатор отфильтровывали, промывали  $\text{MeOH}$  (20 мл) и объединенные фильтраты упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в 15 мл  $\text{MeOH}$ , прибавляли 7.4 мл (37 ммоль) 5 М  $\text{HCl}$  и упаривали в вакууме досуха. Остаток перекристаллизовывали из смеси  $\text{H}_2\text{O}$ – $\text{MeOH}$ – $\text{EtOH}$  и после высушивания в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$ /KOH получали 1.97 г (88%) тетрагидрохлорида (V) в виде бесцветных кристаллов; т. пл.  $250$ – $251^\circ\text{C}$  (с разл.) (лит.: т. пл.  $247^\circ\text{C}$  (с разл.) для лиофилизованного образца [3]);  $R_f$  0.13 (Ж). Найдено, %: С 36.03, Н 9.00, N 15.04.  $\text{C}_{11}\text{H}_{32}\text{N}_4\text{Cl}_4 \cdot 0.25\text{H}_2\text{O}$ . Вычислено, %: С 36.03, Н 8.93, N 15.28.  $^1\text{H-ЯМР}$  ( $\text{D}_2\text{O}$ ): 3.51 (1 H, ск,  $J$  6.83,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ); 3.24–3.11 (10 H, м,  $\text{CH}_2\text{NH} + \text{CH}_2\text{NH}_2$ );

2.18–2.08 (3 H, м,  $\text{NHCHCH}_2 + \text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$ ); 2.04–1.96 (1 H, м,  $\text{NHCHCH}_2$ ); 1.81 (4 H, м,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 1.36 (3 H, д,  $J$  6.60,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ( $\text{D}_2\text{O}$ ): 47.07; 45.41; 44.62; 44.00; 36.67; 30.47; 23.79; 22.83; 17.58; 17.34.

**3-(Бензилоксикарбонил)амино-1-бромбутан (VI).** К охлажденному до  $0^\circ\text{C}$  раствору 3.01 г (13.5 ммоль) соединения (I) и 2.52 мл (18.1 ммоль)  $\text{Et}_3\text{N}$  в 30 мл абс.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при перемешивании прибавляли в течение 15 мин раствор 1.16 мл (15 ммоль)  $\text{Ms-Cl}$  в 10 мл абс.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  и затем перемешивали 30 мин при  $0^\circ\text{C}$  и 30 мин при комнатной температуре. К реакционной смеси прибавляли 30 мл 1 M  $\text{NaHCO}_3$ , органический слой отделяли, промывали последовательно  $\text{H}_2\text{O}$  (10 мл), 0.5 M  $\text{H}_2\text{SO}_4$  ( $3 \times 15$  мл),  $\text{H}_2\text{O}$  (10 мл), 1 M  $\text{NaHCO}_3$  (10 мл), сушили  $\text{MgSO}_4$  и упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в 5 мл абс. THF и прибавляли раствор 3.5 г (40 ммоль)  $\text{LiBr}$  в 20 мл абс. THF. Реакционную смесь перемешивали 12 ч при комнатной температуре, прибавляли 30 мл  $\text{CHCl}_3$ , осадок отфильтровывали и фильтрат упаривали в вакууме досуха. К остатку прибавляли 50 мл  $\text{CHCl}_3$ , последовательно промывали  $\text{H}_2\text{O}$  ( $2 \times 30$  мл), 1 M  $\text{NaHCO}_3$  ( $2 \times 15$  мл) и сушили  $\text{MgSO}_4$ . Растворитель упаривали в вакууме и после высушивания остатка в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$  получали 3.78 г (95%) бромида (VI) в виде густого масла, который использовали далее без дополнительной очистки;  $R_f$  0.61 (A).  $^1\text{H}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ): 7.37–7.26 (5 H, м,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 7.11 (1 H, уш. д,  $\text{NHCBz}$ ); 5.03 (2 H, с,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 3.78–3.72 (1 H, м,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ); 3.46–3.41 (2 H, т,  $J$  7.38,  $\text{CH}_2\text{Br}$ ); 2.10–1.99 (1 H, м,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2$ ); 1.95–1.85 (1 H, м,  $\text{CH}_3\text{CHCH}_2$ ); 1.12 (3 H, д,  $J$  6.63,  $\text{CH}_3$ ).

**$N^1, N^4$ -Бис(*o*-нитрофенилсульфонил)-1,4-диаминобутан (VII).** К охлажденному до  $0^\circ\text{C}$  раствору 1.1 г (12.5 ммоль) свежеперегнанного 1,4-диаминобутана и 5.2 мл (37.5 ммоль)  $\text{Et}_3\text{N}$  в 50 мл абс.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  при перемешивании прибавляли в течение 40 мин при этой же температуре раствор 6.05 г (27.3 ммоль)  $\text{Ns-Cl}$  в 20 мл абс.  $\text{CH}_2\text{Cl}_2$  и реакционную смесь перемешивали еще 30 мин при  $0^\circ\text{C}$  и 3 ч при комнатной температуре. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали  $\text{MeOH}$  ( $3 \times 15$  мл),  $\text{CHCl}_3$  ( $3 \times 10$  мл) и после высушивания в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$  получали 5.3 г (91%) сульфида (VII) в виде желтоватых кристаллов; т. пл.  $185\text{--}186^\circ\text{C}$ ;  $R_f$  0.55 (B).  $^1\text{H}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ): 7.98–7.91 (4 H, м,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 7.86–7.81 (4 H, м,  $\text{C}_6\text{H}_4$ ); 2.87–2.82 (4 H, уш. т,  $\text{CH}_2\text{NHNs}$ ); 1.44–1.37 (4 H, м,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ).

**$N^2, N^{13}$ -Бис(бензилоксикарбонил)-2,13-диамино-5,10-дiazатетрадекан (VIII).** Суспензию 3.78 г (13.2 ммоль) бромида (VI), 2.16 г (4.7 ммоль) сульфида (VII) и 4.30 г (31 ммоль)  $\text{K}_2\text{CO}_3$  в 30 мл абс. DMF перемешивали 48 ч при комнатной температуре, затем прибавляли 10 мл абс. DMF, 3.7 г (27 ммоль)  $\text{K}_2\text{CO}_3$ , 1.4 мл (13.5 ммоль)  $\text{Ph-SH}$  и пере-

мешивали еще 12 ч при комнатной температуре. Растворитель упаривали в вакууме, к остатку прибавляли 50 мл  $\text{CHCl}_3$ , осадок отфильтровывали, промывали  $\text{CHCl}_3$  ( $3 \times 10$  мл) и объединенные фильтраты промывали  $\text{H}_2\text{O}$  ( $2 \times 30$  мл). Растворитель упаривали в вакууме, остаток растворяли в 10 мл диоксана, наносили на колонку с  $\text{SiO}_2$  (130 г) и элюировали смесью (Д). Растворитель упаривали в вакууме, остаток высушивали в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$  и получали 2.3 г (70% считая на (VI)) диамина (VIII) в виде бесцветных кристаллов; т. пл.  $107\text{--}108^\circ\text{C}$  (этилцетат–гексан);  $R_f$  0.46 (E).  $^1\text{H}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ): 7.36–7.26 (10 H, м,  $\text{C}_6\text{H}_5$ ); 5.51 (2 H, уш. с,  $\text{NHCBz}$ ); 5.08 (4 H, с,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 3.85–3.74 (2 H, м,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ); 2.73–2.65 (2 H, м,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 2.64–2.54 (2 H, м,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 2.54–2.45 (4 H, м,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 1.72–1.40 (8 H, м,  $\text{CH}_2\text{CHNHCbz} + \text{CH}_2\text{CHNHCbz} + \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 1.16 (6 H, д,  $J$  6.48,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ( $\text{CDCl}_3$ ): 156.03; 136.86; 128.53; 128.05; 67.14; 66.41; 49.82; 46.45; 46.01; 36.66; 27.87; 21.28.

**Тетрагидрохлорид 2,13-диамино-5,10-дiazатетрадекана,  $\alpha, \alpha'$ - $\text{Me}_2\text{Spm}$  (IX).** К раствору 2.3 г (4.6 ммоль) соединения (VIII) в 30 мл смеси  $\text{AcOH-MeOH}$ , 1 : 1 прибавляли 0.8 мл суспензии  $\text{Pd}$ -черни в  $\text{MeOH}$  и гидрировали при атмосферном давлении до прекращения выделения  $\text{CO}_2$  (около 3 ч).  $\text{Pd}$ -чернь отфильтровывали, промывали  $\text{MeOH}$  (15 мл) и объединенные фильтраты упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в 15 мл  $\text{MeOH}$ , прибавляли 6 мл (30 ммоль) 5 M  $\text{HCl}$  и упаривали в вакууме досуха. Остаток перекристаллизовывали из смеси  $\text{H}_2\text{O-MeOH-EtOH}$  и после высушивания в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5/\text{KOH}$  получали 1.47 г (85%) целевого соединения (IX) в виде бесцветных кристаллов; т. пл.  $224\text{--}225^\circ\text{C}$  с разл. (лит.: т. пл.  $180^\circ\text{C}$  с разл. для лиофилизованного образца [3]);  $R_f$  0.13 (Ж). Найдено, %: C 38.08, H 9.24, N 14.67.  $\text{C}_{12}\text{H}_{34}\text{N}_4\text{Cl}_4$ . Вычислено, %: C 38.31, H 9.11, N 14.89.  $^1\text{H}$ -ЯМР ( $\text{D}_2\text{O}$ ): 3.55–3.46 (2 H, м,  $\text{CH}_3\text{CH}$ ); 3.23–3.18 (4 H, т,  $J$  6.77,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 3.17–3.11 (4 H, м,  $\text{CH}_2\text{NH}$ ); 2.18–2.09 (2 H, м,  $\text{CH}_2\text{CHNH}_2$ ); 2.04–1.93 (2 H, м,  $\text{CH}_2\text{CHNH}_2$ ); 1.84–1.75 (4 H, м,  $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$ ); 1.35 (6 H, д,  $J$  6.63,  $\text{CH}_3$ ).  $^{13}\text{C}$ -ЯМР ( $\text{D}_2\text{O}$ ): 49.86; 48.14; 46.78; 33.27; 25.64; 20.09.

Работа выполнена при финансовой поддержке Академии наук Финляндии и Российского фонда фундаментальных исследований (грант № 03-04-49080).

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Casero R.A., Woster P.M. // J. Med. Chem. 2001. V. 44. P. 1–26.
2. Frydman B., Valasinas A. // Exp. Opin. Ther. Patents. 1999. V. 9. P. 1055–1068.
3. Lakanen J.R., Coward J.K., Pegg A.E. // J. Med. Chem. 1992. V. 35. P. 724–734.

4. Nagarajan S., Ganem B., Pegg A.E. // *Biochem. J.* 1988. V. 254. P. 373–378.
5. Nagarajan S., Ganem B. // *J. Org. Chem.* 1986. V. 51. P. 4856–4861.
6. Shappell N., Fogel-Petrovic M., Porter C.W. // *FEBS Lett.* 1993. V. 321. P. 179–183.
7. Varnado B.L., Voci L.M., Meyer L.M., Coward J.K. // *Bioorg. Chem.* 2000. V. 28. P. 395–408.
8. Byers T.L., Lakanen J.R., Coward J.K., Pegg A.E. // *Biochem. J.* 1994. V. 303. P. 363–368.
9. Rasanen T.-L., Alhonen L., Sinervirta R., Keinanen T., Herzig K.-H., Suppola S., Khomutov A.R., Vepsalainen J., Janne J. // *J. Biol. Chem.* 2002. V. 277. P. 39867–39872.
10. Huber M., Poulin R. // *Cancer Res.* 1995. V. 55. P. 934–943.
11. Григоренко Н.А., Вепсалайнен Й., Ярвинен А., Кейнанен Т.А., Алхонен Л., Янне Ю., Крицын А.М., Хомутов А.Р. // *Биоорганическая химия.* 2004. Т. 30. С. 441–445.
12. Hyyonen T., Keinanen T.A., Khomutov A.R., Khomutov R.M., Eloranta T.O. // *J. Chromatogr.* 1992. V. 574. P. 17–21.

### New Syntheses of $\alpha$ -Methyl- and $\alpha,\alpha'$ -Dimethylspermine

N. A. Grigorenko\*, J. Vepsalainen\*\*, A. Jarvinen\*\*\*, T. A. Keinanen\*\*\*,  
L. Alhonen\*\*\*, J. Janne\*\*\*, and A. R. Khomutov\*\*

#Phone: +7 (095) 135-6065; fax: +7 (095) 135-1405; e-mail: alexkhom@genome.eimb.relarn.ru

\*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences,  
ul. Vavilova 32, Moscow, 119991 Russia

\*\*Department of Chemistry, University of Kuopio,  
I. Aio 1627 Kuopio, FIN-70211 Finland

\*\*\*Virtanen Institute for Molecular Sciences, University of Kuopio,  
I. Aio 1627, Kuopio, FIN-70211 Finland

$\alpha$ -Methylspermine and  $\alpha,\alpha'$ -dimethylspermine were synthesized in high overall yields starting from *N*-(benzyloxycarbonyl)-3-aminobutanol in order to study polyamine biochemistry *in vitro* and *in vivo*. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2005, vol. 31, no. 2; see also <http://www.maik.ru>.

*Key words:*  $\alpha,\alpha'$ -dimethylspermine,  $\alpha$ -methylspermine, polyamines, spermine/spermidine  $N^1$ -acetyltransferase