



УДК 547.415.057

НОВЫЙ СИНТЕЗ α -МЕТИЛ- И α,α' -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 α -метилспермин и α,α' -диметилспермин с высокими суммарными выходами, исходя из *N*-(бензилоксикарбонил)-3-аминобутанола.

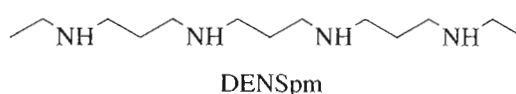
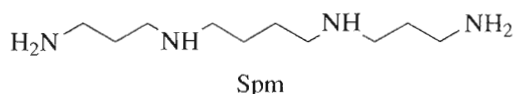
Ключевые слова: полиамины; α -метилспермин; α,α' -диметилспермин; спермидин/спермин-*N*¹-ацетилтрансфераза.

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*¹-ацетилтрансферазы (SSAT, КФ 2.3.1.57), которая катализирует ключевую реакцию катаболизма полиаминов.



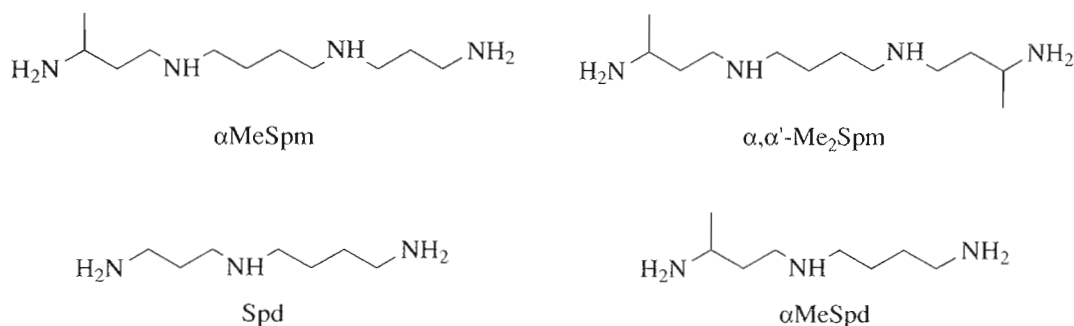
Последующее окисление *N*¹-Ас-спермина в Spd и *N*¹-Ас-спермидина в путресцин приводит к истощению пула Spm и Spd и ингибированию роста клеток (см. обзоры [1, 2]).

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

менные аналоги [3–5]. Некоторые из этих веществ, например α MeSpm, α,α' -Me₂Spm, α 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 α -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]. α MeSpd, α MeSpm и α,α' -Me₂Spm взаимодействуют с ДНК аналогично природным полиамиям [7], а α 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); α,α' -Me₂Spm – α,α' -диметилспермин (2,13-диамино-5,10-дiazатетрадекан); α MeSpd – α -метилспермидин (1,8-диамино-5-азанонан); α MeSpm – α -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*¹-ацетилтрансфераза.

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



α 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 α -метильных производных Spm и Spd. В этом случае использование катаболически устойчивых аналогов Spm, способных выполнять его основные клеточные функции, например α MeSpm и α, α' -Me₂Spm, должно привести к понижению действующей концентрации α MeSpd.

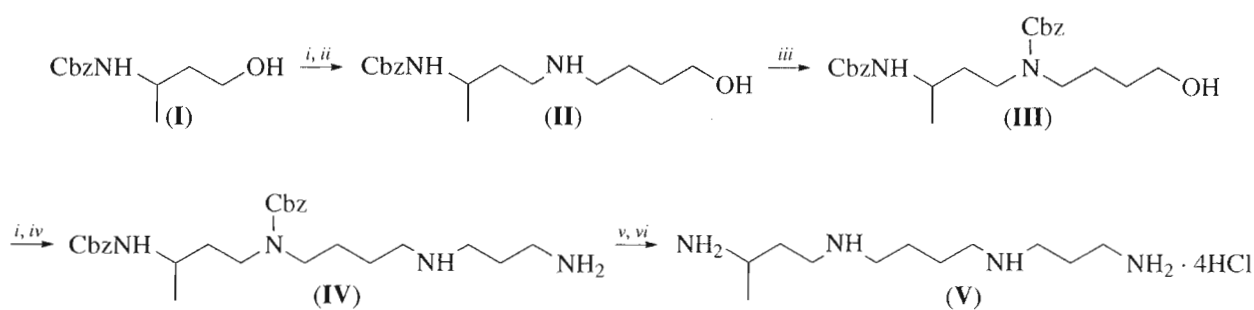
Несмотря на очевидную биохимическую значимость, α -метильные аналоги Spm до сих пор остаются малодоступными соединениями. Недавно мы описали простой способ синтеза α MeSpd [11], а в настоящей работе представлены удобные схемы получения α MeSpm и α, α' -Me₂Spm, позволяющие синтезировать их в количествах, необходи-

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

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Описанные в литературе методы синтеза α MeSpm и α, α' -Me₂Spm обладают существенными недостатками и позволяют получать целевые соединения в количестве нескольких десятков миллиграммов с низким суммарным выходом [3].

В настоящей работе для построения скелета α 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 LiAlH₄ в THF с последующим *N*-карбобензоксилированием по методу, описанному нами ранее в синтезе α MeSpd [11].



i – Ms-Cl/Et₃N/CH₂Cl₂; *ii* – H₂N(CH₂)₄OH/THF; *iii* – Cbz-Cl/H₂O/NaHCO₃; *iv* – H₂N(CH₂)₃NH₂/THF; *v* – H₂/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) карбобензоксилировали 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

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

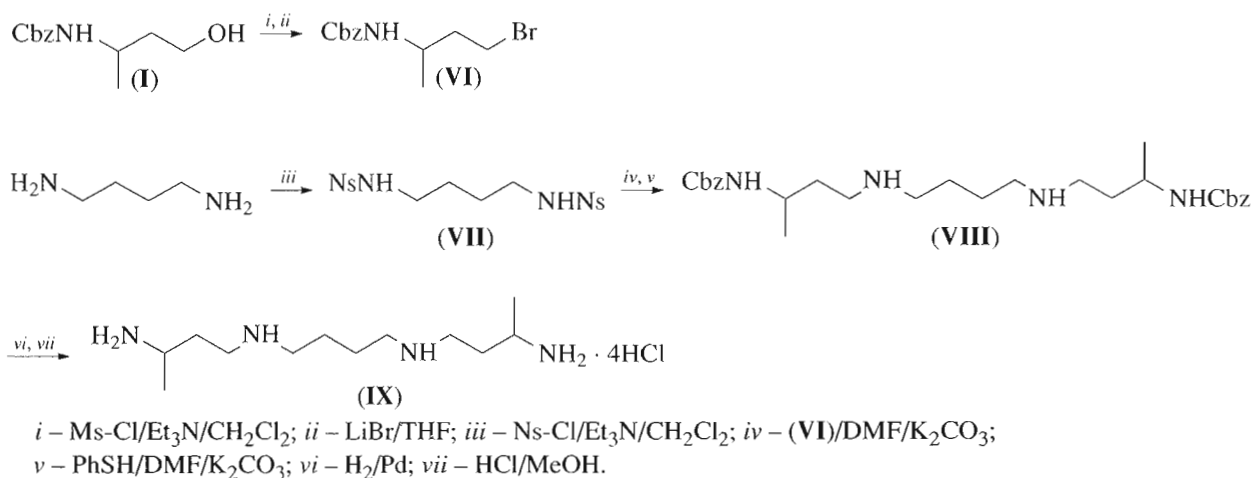


Схема 2.

Взаимодействием путресцина с 2.1 экв. Ns-Cl в присутствии Et₃N 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 α, α' -Me₂Spm (**IX**) выделяли в виде тетрагидрохлорида. Суммарный выход составил 57%, считая на 3-Cbz-аминобутанол.

Таким образом, описанные в настоящей работе схемы синтеза позволяют получать α -MeSpm и α, α' -Me₂Spm 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

Описанная выше линейная стратегия синтеза малоэффективна для получения α, α' -Me₂Spm. 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**).

(*R*)- и (*S*)-изомеров α -MeSpm и α, α' -Me₂Spm, которые могли бы проявлять различную биологическую активность.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали этиловый эфир β -амино-масляной кислоты, 1,4-диаминобутан, Ns-Cl (Aldrich), Cbz-Cl, Ms-Cl, 4-аминобутанол, 1,3-диаминопропан (Fluka), LiAlH₄ (Sigma). 3-Cbz-аминобутанол получали согласно работе [11]. ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) в системах: CHCl₃ (A); CHCl₃-MeOH, 200 : 1 (Б); CHCl₃-MeOH, 97 : 3 (В); CHCl₃-MeOH, 9 : 1 (Г); диоксан-25% NH₄OH, 97 : 3 (Д); диоксан-25% NH₄OH, 9 : 1 (Е); *n*-BuOH-АсОН-пиридин-H₂O, 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 Me₄Si (CDCl₃) и натриевую соль 3-триметилсилилпропансульфонокислоты (D₂O). 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) Et₃N

в 40 мл абс. CH_2Cl_2 прибавляли при перемешивании в течение 15 мин раствор 1.24 мл (16 ммоль) Ms-Cl в 10 мл абс. CH_2Cl_2 и оставляли перемешиваться еще 1 ч при 0°C и 1 ч при комнатной температуре. К реакционной смеси прибавляли 25 мл 1 М раствора NaHCO_3 , органическую фазу отделяли, промывали последовательно H_2O (10 мл), 0.5 М H_2SO_4 (3×25 мл), H_2O (10 мл), 1 М NaHCO_3 (20 мл), насыщ. NaCl (10 мл), сушили MgSO_4 и упаривали в вакууме досуха. К остатку в 20 мл абс. THF прибавляли в один прием раствор 8.9 г (100 ммоль) 4-аминобутанола в 10 мл абс. THF и оставляли на ночь при 50°C . Избыток 4-аминобутанола отгоняли в вакууме, остаток растворяли в 20 мл 1 М NaOH , экстрагировали 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 SiO_2 (135 г), элюируя смесью (Д). Растворитель упаривали в вакууме, остаток высушивали в вакууме над P_2O_5 и получали 3.22 г (73%) аминоспирта (II) в виде густого масла; R_f 0.45 (Е). $^1\text{H-ЯМР}$ (CDCl_3): 7.40–7.29 (5 H, м, C_6H_5); 5.09 (2 H, с, CH_2Ph); 5.03 (0.5 H, с, NHCBz); 5.01 (с, 0.5H, NHCBz); 3.85–3.77 (1 H, м, CH_2CH); 3.57 (2 H, т, J 6.32, CH_2OH); 2.70–2.55 (4 H, м, CH_2NHCH_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, CH_3).

N^5, N^8 -Бис(бензилоксикарбонил)-8-амино-5-азаноланол (III). К охлажденному до 0°C раствору 2.94 г (10 ммоль) соединения (II) в смеси 10 мл THF , 5 мл H_2O , 0.6 мл (6 ммоль) 10 М NaOH и 0.84 г (10 ммоль) NaHCO_3 при перемешивании прибавляли 1.55 мл (11 ммоль) Cbz-Cl в 3 порции с интервалом 15 мин. Затем перемешивали 1 ч при 0°C и 3 ч при комнатной температуре, водную фазу отделяли, экстрагировали CHCl_3 (15 мл) и объединенные органические вытяжки упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в 30 мл CHCl_3 и промывали последовательно 0.5 М H_2SO_4 (2×10 мл), H_2O (15 мл), 1 М NaHCO_3 (2×10 мл), сушили MgSO_4 и упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в CHCl_3 и делили на две части, каждую из которых очищали на колонке с SiO_2 (120 г), элюируя сначала смесью CHCl_3 – MeOH , 200 : 1, а затем смесью CHCl_3 – MeOH , 95 : 5. Растворитель упаривали в вакууме, остаток высушивали в вакууме над P_2O_5 и получали 3.94 г (92%) защищенного аминоспирта (III) в виде бесцветного густого масла; R_f 0.27 (В). $^1\text{H-ЯМР}$ (CDCl_3): 7.34–7.27 (10 H, м, C_6H_5); 5.11 (2 H, с, CH_2Ph); 5.07 (2 H, с, CH_2Ph); 4.96 (0.5 H, с, NHCBz); 4.57 (0.5 H, с, 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, CH_3). $^{13}\text{C-ЯМР}$ (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°C раствору 3.85 г (9 ммоль) соединения (III) и 1.53 мл (11 ммоль) Et_3N в 20 мл абс. CH_2Cl_2 прибавляли при перемешивании в течение 10 мин раствор 0.77 мл (10 ммоль) Ms-Cl в 5 мл абс. CH_2Cl_2 , затем перемешивали еще 1 ч при 0°C и 30 мин при комнатной температуре. К реакционной смеси прибавляли 20 мл 1 М раствора NaHCO_3 , органическую фазу отделяли, промывали последовательно H_2O (10 мл), 0.5 М H_2SO_4 (3×15 мл), H_2O (10 мл), 1 М NaHCO_3 (10 мл), насыщ. NaCl (10 мл), сушили MgSO_4 и упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в 15 мл абс. THF , охлаждали до 0°C и к полученному раствору прибавляли 6.66 г (90 ммоль) 1,3-диаминопропана в 5 мл абс. THF . Реакционную смесь выдерживали 6 ч при 0°C , оставляли на ночь при комнатной температуре, затем растворитель и избыток 1,3-диаминопропана отгоняли в вакууме. Остаток растворяли в 15 мл 1 М NaOH , экстрагировали CH_2Cl_2 (15 мл), органическую фазу упаривали в вакууме, остаток растворяли в смеси диоксан–25% NH_4OH , 94 : 6, и раствор делили на две части, каждую из которых очищали на колонке с SiO_2 (135 г), элюируя смесью диоксан–25% NH_4OH , 94 : 6. Растворитель упаривали в вакууме досуха, остаток высушивали в вакууме над P_2O_5 и получали 3.05 г (70%) диамина (IV) в виде густого масла; R_f 0.25 (Д). $^1\text{H-ЯМР}$ (CDCl_3): 7.34–7.29 (10 H, м, C_6H_5); 5.10 (2 H, с, CH_2Ph); 5.07 (2 H, с, CH_2Ph); 4.79 (1 H, с, 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, CH_2NH_2); 2.66–2.53 (4 H, м, CH_2NHCH_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, CH_3). $^{13}\text{C-ЯМР}$ (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, αMeSprm (V). К раствору 3.0 г (6.2 ммоль) соединения (IV) в 30 мл смеси AcOH – MeOH , 1 : 1 прибавляли 0.9 мл суспензии Pd -черни в MeOH и гидрировали при атмосферном давлении до прекращения выделения CO_2 (около 4 ч). Катализатор отфильтровывали, промывали MeOH (20 мл) и объединенные фильтраты упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в 15 мл MeOH , прибавляли 7.4 мл (37 ммоль) 5 М HCl и упаривали в вакууме досуха. Остаток перекристаллизовывали из смеси H_2O – MeOH – EtOH и после высушивания в вакууме над P_2O_5 / KOH получали 1.97 г (88%) тетрагидрохлорида (V) в виде бесцветных кристаллов; т. пл. 250 – 251°C (с разл.) (лит.: т. пл. 247°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. $^1\text{H-ЯМР}$ (D_2O): 3.51 (1 H, ск, J 6.83, CH_3CH); 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, 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, CH_3). ^{13}C -ЯМР (D_2O): 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°C раствору 3.01 г (13.5 ммоль) соединения (I) и 2.52 мл (18.1 ммоль) Et_3N в 30 мл абс. CH_2Cl_2 при перемешивании прибавляли в течение 15 мин раствор 1.16 мл (15 ммоль) Ms-Cl в 10 мл абс. CH_2Cl_2 и затем перемешивали 30 мин при 0°C и 30 мин при комнатной температуре. К реакционной смеси прибавляли 30 мл 1 M NaHCO_3 , органический слой отделяли, промывали последовательно H_2O (10 мл), 0.5 M H_2SO_4 (3×15 мл), H_2O (10 мл), 1 M NaHCO_3 (10 мл), сушили MgSO_4 и упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в 5 мл абс. THF и прибавляли раствор 3.5 г (40 ммоль) LiBr в 20 мл абс. THF. Реакционную смесь перемешивали 12 ч при комнатной температуре, прибавляли 30 мл CHCl_3 , осадок отфильтровывали и фильтрат упаривали в вакууме досуха. К остатку прибавляли 50 мл CHCl_3 , последовательно промывали H_2O (2×30 мл), 1 M NaHCO_3 (2×15 мл) и сушили MgSO_4 . Растворитель упаривали в вакууме и после высушивания остатка в вакууме над P_2O_5 получали 3.78 г (95%) бромида (VI) в виде густого масла, который использовали далее без дополнительной очистки; R_f 0.61 (A). ^1H -ЯМР (CDCl_3): 7.37–7.26 (5 H, м, C_6H_5); 7.11 (1 H, уш. д, NHcCbz); 5.03 (2 H, с, CH_2Ph); 3.78–3.72 (1 H, м, CH_3CH); 3.46–3.41 (2 H, т, J 7.38, CH_2Br); 2.10–1.99 (1 H, м, CH_3CHCH_2); 1.95–1.85 (1 H, м, CH_3CHCH_2); 1.12 (3 H, д, J 6.63, CH_3).

N^1, N^4 -Бис(*o*-нитрофенилсульфонил)-1,4-диаминобутан (VII). К охлажденному до 0°C раствору 1.1 г (12.5 ммоль) свежеперегнанного 1,4-диаминобутана и 5.2 мл (37.5 ммоль) Et_3N в 50 мл абс. CH_2Cl_2 при перемешивании прибавляли в течение 40 мин при этой же температуре раствор 6.05 г (27.3 ммоль) Ns-Cl в 20 мл абс. CH_2Cl_2 и реакционную смесь перемешивали еще 30 мин при 0°C и 3 ч при комнатной температуре. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали MeOH (3×15 мл), CHCl_3 (3×10 мл) и после высушивания в вакууме над P_2O_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). ^1H -ЯМР (CDCl_3): 7.98–7.91 (4 H, м, C_6H_4); 7.86–7.81 (4 H, м, C_6H_4); 2.87–2.82 (4 H, уш. т, CH_2NHNs); 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) K_2CO_3 в 30 мл абс. DMF перемешивали 48 ч при комнатной температуре, затем прибавляли 10 мл абс. DMF, 3.7 г (27 ммоль) K_2CO_3 , 1.4 мл (13.5 ммоль) Ph-SH и пере-

мешивали еще 12 ч при комнатной температуре. Растворитель упаривали в вакууме, к остатку прибавляли 50 мл CHCl_3 , осадок отфильтровывали, промывали CHCl_3 (3×10 мл) и объединенные фильтраты промывали H_2O (2×30 мл). Растворитель упаривали в вакууме, остаток растворяли в 10 мл диоксана, наносили на колонку с SiO_2 (130 г) и элюировали смесью (Д). Растворитель упаривали в вакууме, остаток высушивали в вакууме над P_2O_5 и получали 2.3 г (70% считая на (VI)) диамина (VIII) в виде бесцветных кристаллов; т. пл. $107\text{--}108^\circ\text{C}$ (этил-ацетат–гексан); R_f 0.46 (E). ^1H -ЯМР (CDCl_3): 7.36–7.26 (10 H, м, C_6H_5); 5.51 (2 H, уш. с, NHcCbz); 5.08 (4 H, с, CH_2Ph); 3.85–3.74 (2 H, м, CH_3CH); 2.73–2.65 (2 H, м, CH_2NH); 2.64–2.54 (2 H, м, CH_2NH); 2.54–2.45 (4 H, м, CH_2NH); 1.72–1.40 (8 H, м, $\text{CH}_2\text{CHNHNcCbz} + \text{CH}_2\text{CHNHNcCbz} + \text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); 1.16 (6 H, д, J 6.48, CH_3). ^{13}C -ЯМР (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, α, α' - Me_2Spm (IX). К раствору 2.3 г (4.6 ммоль) соединения (VIII) в 30 мл смеси AcOH-MeOH , 1 : 1 прибавляли 0.8 мл суспензии Pd-черни в MeOH и гидрировали при атмосферном давлении до прекращения выделения CO_2 (около 3 ч). Pd-чернь отфильтровывали, промывали MeOH (15 мл) и объединенные фильтраты упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в 15 мл MeOH , прибавляли 6 мл (30 ммоль) 5 M 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°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. ^1H -ЯМР (D_2O): 3.55–3.46 (2 H, м, CH_3CH); 3.23–3.18 (4 H, т, J 6.77, CH_2NH); 3.17–3.11 (4 H, м, CH_2NH); 2.18–2.09 (2 H, м, CH_2CHNH_2); 2.04–1.93 (2 H, м, CH_2CHNH_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, CH_3). ^{13}C -ЯМР (D_2O): 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. // *Биоорг. 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 α -Methyl- and α,α' -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

α -Methylspermine and α,α' -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: α,α' -dimethylspermine, α -methylspermine, polyamines, spermine/spermidine N^1 -acetyltransferase