



УДК 547.415.057

НОВЫЕ ОКСААНАЛОГИ СПЕРМИНА

© 2005 г. А. Р. Хомутов^{**}, А. Р. Симонян^{*}, Й. Веспалайнен^{**},
Т. А. Кейнанен^{***}, Л. Алхонен^{***}, Ю. Янне^{***}^{*}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 25.05.2004 г. Принята к печати 28.09.2004 г.

Синтезированы неизвестные ранее изостерный зарядодефицитный аналог спермина – 1,12-диамино-4,9-диаза-5-оксадодекан и стабильный аналог основания Шиффа – *O*-(7-амино-4-азагептил)оксим 3-аминопропаналя, промежуточного продукта, возникающего в ходе ферментативного окисления спермина. Обсуждаются возможности использования этих соединений для ингибирования сперминоксидазы.

Ключевые слова: полиамины, сперминоксидаза, оксаспермин, аналоги полиаминов.

ВВЕДЕНИЕ

Избирательное регулирование активности ферментов метаболизма полиаминов широко используется при изучении роли спермина и спермидина в процессах роста и дифференцировки клеток. Эти исследования имеют научное и определенное практическое значение, учитывая важность и разнообразие клеточных функций полиаминов, а также их повышенное содержание в опухолевых клетках по сравнению с нормальными [1, 2].

Наиболее эффективный способ истощения внутриклеточного пула спермина и спермидина состоит в активации ферментов катаболизма полиаминов [3], поэтому в последние годы изучение этих ферментов является одним из важных направлений в биохимии полиаминов.

Классический путь деградации спермина включает в себя *N*¹-ацетилирование, катализируемое спермин/спермидин *N*¹-ацетилтрансферазой, и последующее окисление продукта под действием полиаминоксидазы (РАО, КФ 1.5.3.11) (схема 1) [4]. Для хорошо изученной флавинозависимой РАО известен избирательный эффективно действующий необратимый ингибитор – *N*¹,*N*⁴-бис(2,3-бутадиенил)-1,4-диаминобутан (MDL-72.527) (рисунок), имеющий по отношению к изолированному ферменту K_i 0.09 мкМ и $\tau_{1/2}$ 2.2 мин [5].

Недавно в животных клетках была обнаружена сперминоксидаза (SMO) – новый флавинозависимый фермент, окисляющий спермин в спермидин без предварительного *N*¹-ацетилирования [6–11]. Таким образом, деградация спермина может происходить двумя независимыми путями (схема 1). Известно несколько ингибиторов SMO, лучший из которых – *цис*-3,8,13,18,23,28,33,38,43,48-деказапентаконтен-25 (SL-11150) (рисунок) имеет IC_{50} 10^{-7} М [8]. Аналогичная флавинозависимая оксидаза спермина существует и у растений, а 1,17-бис(гуанидил)-9-азагептадекан (гуазатин) (рисунок) ингибирует фермент из маиса с K_i 7.5×10^{-9} М [12]. Рентгеноструктурные исследования фермент-ингибиторного комплекса (Е-И) показали, что эффективность торможения обусловлена прочным нековалентным связыванием этого соединения в активном центре фермента [13].

В настоящей работе описывается синтез неизвестных ранее 1,12-диамино-4,9-диаза-5-оксадодекана (I) (схема 2) и *O*-(7-амино-4-азагептил)окси-ма 3-аминопропаналя (II) (схема 3), которые предлагается использовать для ингибирования SMO и изучения механизма действия этого фермента.

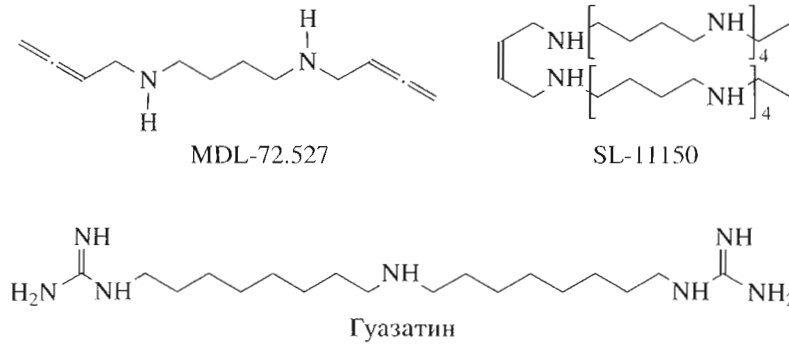
РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Показано, что ферментативное окисление спермина происходит через промежуточное образование основания Шиффа, гидролиз которого приводит к 3-аминопропаналю и спермидину (схема 4) [10].

В настоящей работе для получения новых потенциальных ингибиторов SMO метиленовая группа в пятом положении спермина была заменена атомом кислорода, что привело к *N,O*-диалкилгидроксиламину (I). Поскольку окса-Spm (I) представляет

Сокращения: Врс – 2-(4-бифенилил)проп-2-илоксикарбонил; Mts – мезитиленсульфонил; Ns – 2-нитробензолсульфонил; Pms – 2,2,5,7,8-пентаметил-6-хромансульфонил; РАО – полиаминоксидаза; Spd – спермидин (1,8-диамино-4-азаоктан); Spm – спермин (1,12-диамино-4,9-диазододекан); SSAT – спермин/спермидин *N*¹-ацетилтрансфераза (КФ 2.3.1.57); SMO – сперминоксидаза.

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



Ингибиторы SMO и PAO.

собой изомер спермина, можно ожидать, что это соединение будет хорошим конкурентным ингибитором SMO. Атом кислорода в пятом положении окса-Spm (I) понижает основность соседней NH-группы ($pK_a \sim 5.5$) по сравнению со спермином (HN-группа имеет pK_a 7.97 [14]), поэтому окса-Spm (I) при физиологическом pH существует в виде трикатиона. Так как происходящее в активном центре SMO депротонирование вторичной аминогруппы спермина предшествует его окислению, то окса-Spm (I) может рассматриваться и как своеобразный аналог промежуточно возникающей в активном центре SMO трехзарядной формы спермина. При ферментативном окислении окса-Spm (I) нельзя исключить образования ковалентного аддукта с коферментом, подобного описанному для окисления 1-циклогептилметил-12-этилнорспермина (CHENSpm) ферментом из маиса [13]. Если окса-Spm (I) будет окисляться, подобно спермину, то в активном центре SMO *in situ* должен образоваться оксим (II), представля-

ющий собой стабильный аналог основания Шиффа (схема 4). Известно, что получение стабильных аналогов промежуточных соединений ферментативных реакций является достаточно универсальным алгоритмом создания эффективных ингибиторов различных ферментов (см. обзор [15]). Поэтому в данной работе наряду с синтезом окса-Spm (I) описывается и получение оксима (II). Сравнительное изучение взаимодействия этих соединений с SMO позволит получить новую информацию о механизме действия и способах регулирования ее активности.

Общим методом синтеза алифатических *O,N*-дизамещенных гидроксиламинов является восстановление *O*-замещенных оксимов комплексными боргидридами в умеренокислой (pH ~ 3) среде. Этим способом, исходя из 3-азидопропаналя и 3-аминокси-1-(*N*-бензилоксикарбонил)аминопропана, был получен 1,8-диамино-4-аза-5-оксаоктан – оксааналог спермидина [16].

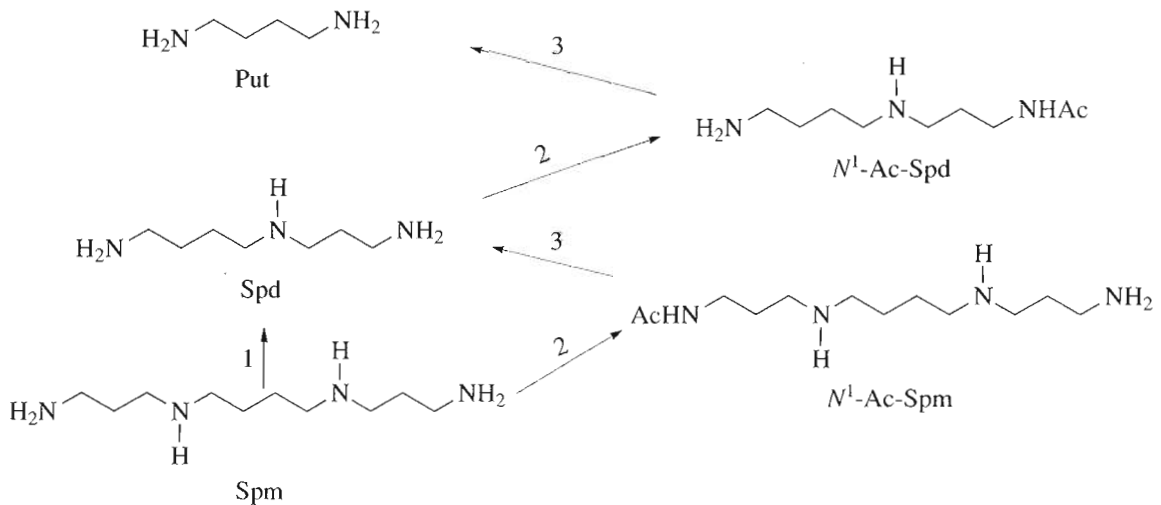
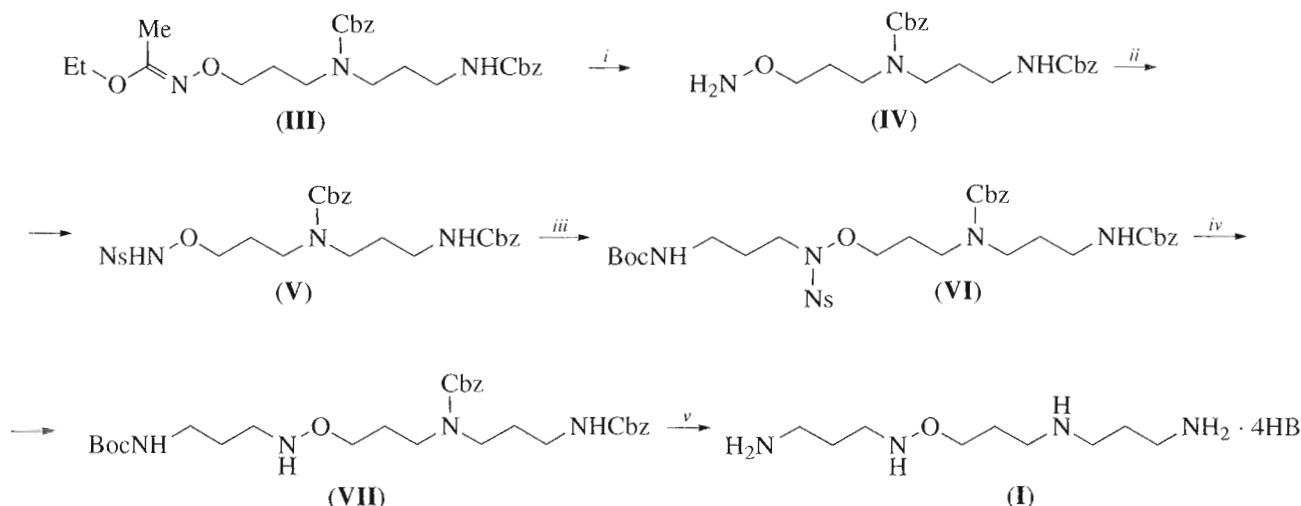
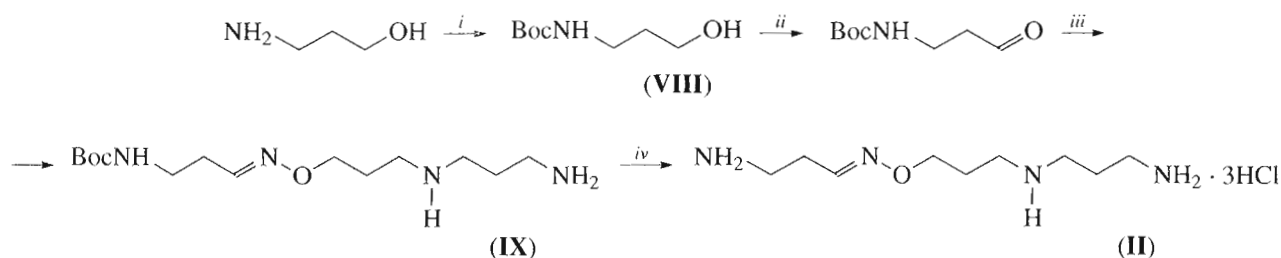


Схема 1. Катаболизм полиаминов [4]. 1 – SMO – сперминоксидаза; 2 – SSAT – спермин/спермидин N^1 -ацетилтрансфераза; 3 – PAO – полиаминооксидаза, Put – путресцин.



i – HCl/*i*-PrOH/H₂O, *ii* – Ns-Cl/CH₂Cl₂, *iii* – BocNH(CH₂)₃I/K₂CO₃/DMF, *iv* – PhSH/K₂CO₃/DMF, *v* – HBr/AcOH.

Схема 2. Схема синтеза 1,12-диамино-4,9-диаза-5-оксадодекана (I).



i – Boc₂O/THF, *ii* – CrO₃ · Py · HCl/Al₂O₃/CH₂Cl₂, *iii* – H₂NO(CH₂)₃NH(CH₂)₃NH₂/MeOH/H₂O, *iv* – HCl/MeOH.

Схема 3. Схема синтеза *O*-(7-амино-4-азагептил)оксима 3-аминопропаналя (II).

Альтернативная схема синтеза 1,8-диамино-4-аза-5-оксаоктана заключается в конденсации Pmc-производного *N*-(3-аминооксипропил)фталимида с 3-*N*-Врос-аминопропанолом в условиях реакции Мицунобу с последующим удалением защитных групп [17]. Получение бисоксааналога спермина – 1,12-диамино-4,9-диаза-5,8-диоксадодекана, основано на взаимодействии 3-*N*-Врос-аминопропанола с бис-Pmc-производным 1,2-диаминооксиэтана [17].

Для получения 1,12-диамино-4,9-диаза-5-оксадодекана (I) был выбран путь, ключевой стадией которого является алкилирование 3-*N*-Врос-аминопропилюидом 2-нитробензолсульфонильного производного 1,4-бис(бензилоксикарбонил)-7-аминокси-4-аза-1-аминогептана (V) (схема 2).

Известно, что в стандартных условиях синтеза арилсульфамидов с использованием Et₃N в качестве основания *гем*-бис-Mts-производное *O*-замещенного гидроксилamina образуется только при из-

бытке мезитиленсульфонилхлорида (Mst-Cl) [18]. Взаимодействие 2-нитробензолсульфонилхлорида (Ns-Cl) с гидроксилaminом (IV) протекает неоднозначно даже при эквимолярных соотношениях Ns-Cl : RONH₂ : Et₃N. Однако проведение реакции с 2.5–3.0-кратным избытком *O*-замещенного гидроксилamina в отсутствие других оснований приводит к *моно*-Ns-производному (V) с выходом около 70%. Дальнейшие превращения заключались в алкилировании 3-*N*-Врос-аминопропилюидом Ns-производного (V), избирательном денозилировании соединения (VI) тиофенолом, подобно описанному для аминов [19, 20], и удалении Cbz-групп действием HBr/AcOH, что приводило к целевому тетрагидробромиду 1,12-диамино-4,9-диаза-5-оксадодекана (I).

Синтез оксима (II) был осуществлен исходя из 3-*N*-Врос-аминопропанола (VIII) (схема 3), который на первой стадии окисляли до соответствующей

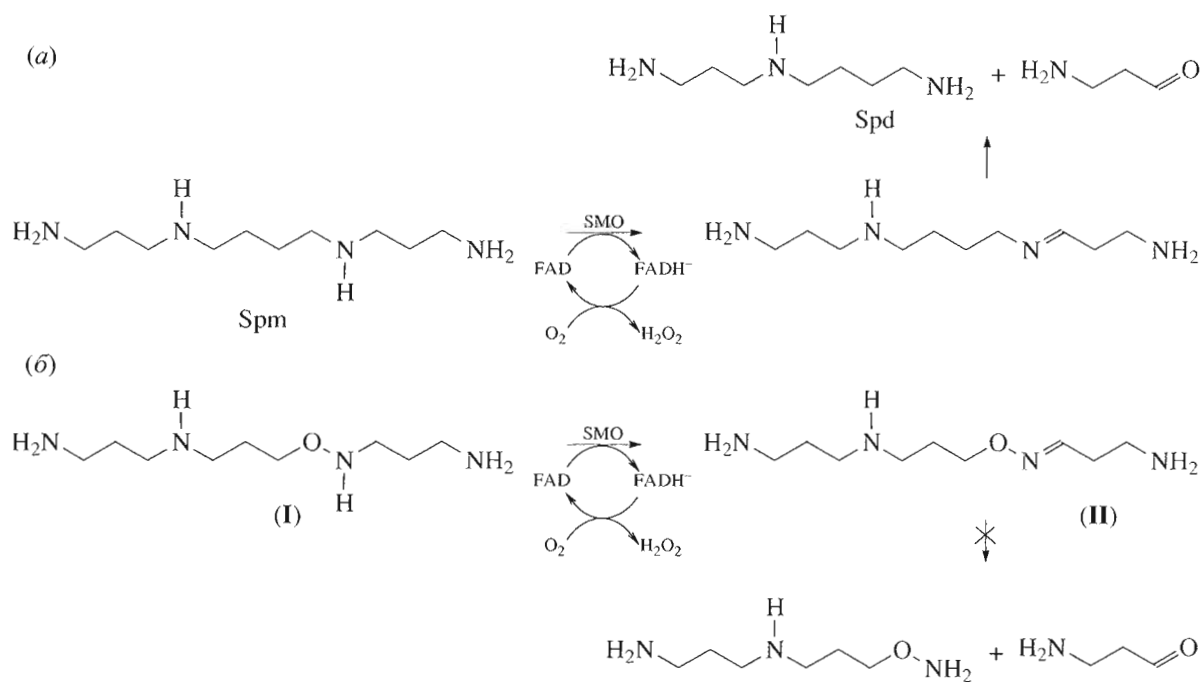


Схема 4. Окислительное расщепление спермина у животных [10] (а) и предполагаемое ферментативное окисление соединения (I) в оксим (II) (б).

щего альдегида действием хлорхромата пиридиния на нейтральной Al_2O_3 . 3-(*N*-*трет*-Бутилоксикарбонил)аминопропаналь без выделения вводили в реакцию с 1-амино-4-аза-7-аминооксигептаном. Образовавшийся оксим (IX) выделяли колоночной хроматографией на силикагеле в виде смеси *син*- и *анти*-изомеров в соотношении 40 : 60 (данные ^1H -ЯМР). Последующее удаление Вос-защитной группы действием HCl/MeOH при 0°C и перекристаллизация приводили к искомому тригидрохлориду (II), при этом соотношение *син*- и *анти*-изомеров мало изменилось и составило 35 : 65.

Следует отметить, так как восстановление оксимов является общим методом синтеза *O,N*-диалкилгидроксиламинов (см. выше), то восстановление соединения (II) с помощью NaCNBH_3 должно приводить к окса-Spm (I).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использовали реактивы: Cbz-Cl , Woc_2O , PhSH , абс. EtOH , бромгидрат 1-амино-3-бромпропана (Fluka); 2-нитробензолсульфонилхлорид, 3-аминопропанол (Aldrich). 7-Аминоокси-4-аза-1-аминогептан и 7-(1'-этоксиэтилиден)аминоокси-4-(*N*-бензилоксикарбонил)аза-1-(*N*-бензилоксикарбонил)аминогептан синтезированы как описано в работе [21]; хлорхромат пиридиния на Al_2O_3 синтезирован как описано в работе [22]. ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 F_{254} (Merck) в системах: CHCl_3 - MeOH , 95 : 5 (А); CHCl_3 (Б);

n- BuOH - AcOH - Py - H_2O , 4 : 2 : 1 : 2 (В); CHCl_3 - MeOH , 9 : 1 (Г); диоксан-25% NH_4OH , 8 : 2 (Д). Вещества на хроматограммах обнаруживали по УФ-поглощению и цветной реакции с нингидрином, а аминокислоты – в виде флуоресцирующих оксимов пиридоксаль-5'-фосфата. Колоночную хроматографию выполняли на силикагеле Kieselgel (40–63 мкм, Merck), системы для элюции указаны в тексте.

Спектры ЯМР регистрировали на приборе Bruker Avance 500 DRX (Германия) с рабочей частотой 500.1 МГц для ^1H -ЯМР- и 125.8 МГц для ^{13}C -ЯМР-спектров. В качестве внутреннего стандарта использовали Me_4Si (CDCl_3 , CD_3OD) и натриевую соль 3-триметилсилил-1-пропансульфонокислоты (D_2O). Приведены хим. сдвиги в миллионных долях, а КССВ в герцах.

7-Аминоокси-4-(*N*-бензилоксикарбонил)аза-1-(*N*-бензилоксикарбонил)аминогептан (IV). К раствору 4.7 г (9.73 ммоль) соединения (III) в 10 мл *i*- PrOH прибавляли 1.5 мл конц. HCl , выдерживали 10 мин при комнатной температуре и упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в 5 мл H_2O , прибавляли 1.5 мл 10 М NaOH и экстрагировали CHCl_3 (3 × 5 мл). Объединенные хлороформные экстракты промывали насыщ. раствором NaCl (2 × 2 мл), высушивали над MgSO_4 и упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в 6 мл CHCl_3 и вещество (IV) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (60 г), элюируя последовательно CHCl_3 и CHCl_3 - MeOH , 97 : 3.

После высушивания в вакууме над P_2O_5 получили 2.71 г (73%) соединения (**IV**) в виде густого масла. R_f 0.37 (A). 1H -ЯМР ($CDCl_3$): 7.4–7.2 (10 H, м, Ph); 5.12 (2 H, с, CH_2Ph); 5.08 (2 H, с, CH_2Ph); 3.77 (2 H, м, H_2NOCH_2); 3.46 (2 H, м, $H_2NOCH_2CH_2CH_2N$); 3.35–3.08 (4 H, м, $NCH_2(CH_2)_2NHCbz$) + $N(CH_2)_2CH_2NHCbz$); 1.65–1.38 (4 H, м, $H_2NOCH_2CH_2CH_2N$ + $NCH_2CH_2CH_2NHCbz$).

7-(N-2-Нитробензолсульфонил)аминоокси-4-(N-бензилоксикарбонил)аза-1-(N-бензилоксикарбонил)аминогептан (V). К раствору 2.71 г (6.5 ммоль) соединения (**IV**) в 8 мл CH_2Cl_2 прибавляли раствор 0.48 г (2.2 ммоль) $NS-Cl$ в 6.5 мл CH_2Cl_2 . Реакционную смесь выдерживали 24 ч при комнатной температуре, упаривали в вакууме досуха, остаток растворяли в 6 мл смеси $CHCl_3$ –MeOH, 99 : 1, и очищали колоночной хроматографией на силикагеле (60 г), элюируя $CHCl_3$ –MeOH, 99 : 1. После высушивания остатка в вакууме над P_2O_5 получили 1.3 г (65%, считая на $NS-Cl$) соединения (**V**) в виде густого масла. R_f 0.57 (A). 1H -ЯМР ($CDCl_3$): 8.18 (1 H, м, NS); 7.99 (1 H, м, NS); 7.85 (1 H, м, NS); 7.74 (1 H, м, NS); 7.36–7.26 (10 H, м, Ph); 5.60 (1 H, с, HNO); 5.12 (2 H, с, CH_2Ph); 5.08 (2 H, с, CH_2Ph); 4.04 (2 H, м, $NSHNOCH_2$); 3.30–3.28 (4 H, м, $H_2NOCH_2CH_2CH_2N$ + $NCH_2(CH_2)_2NHCbz$); 3.13 (2 H, м, $N(CH_2)_2CH_2NHCbz$); 1.88–1.67 (4 H, м, $NSHNOCH_2CH_2CH_2N$ + $NCH_2CH_2CH_2NHCbz$).

1-(N-трет-Бутилоксикарбонил)амино-4-аза-5-окса-9-(N-бензилоксикарбонил)аза-12-(N-бензилоксикарбонил)аминододекан (VII). К охлажденному до $+4^\circ C$ раствору 5.5 г (25 ммоль) бромгидрата 3-бром-1-аминопропана в 7 мл H_2O прибавляли 2.5 мл 10 М $NaOH$, 20 мл диоксана, раствор 6 г (28 ммоль) Woc_2O в 10 мл диоксана и перемешивали 16 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь упаривали в вакууме досуха, остаток растворяли в $CHCl_3$ и промывали последовательно H_2O (2×10 мл), 10% лимонной кислотой (2×10 мл), H_2O (3×10 мл) и сушили над $MgSO_4$. Органический растворитель упаривали в вакууме досуха, остаток растворяли в 20 мл ацетона, прибавляли 4.1 г (27.2 ммоль) NaI и перемешивали 18 ч при комнатной температуре. Выпавший осадок отделяли, фильтрат упаривали в вакууме досуха, остаток растворяли в $CHCl_3$, промывали H_2O (2×2 мл) и сушили над $MgSO_4$. Органический растворитель упаривали в вакууме досуха, и остаток высушивали в вакууме при $+4^\circ C$ над P_2O_5 . Получили 5.35 г (83%) 1-(N-трет-бутилоксикарбонил)амино-3-иодпропана в виде густого медленно затвердевающего желтоватого масла. Часть полукристаллической массы растирали с небольшим количеством гексана, оставляли на ночь при $+4^\circ C$, осадок отделяли и промывали холодным гексаном, высушивали в вакууме над парафином и P_2O_5 , получили бесцветные кристаллы $WocNH(CH_2)_3I$. R_f 0.36 (B); т. пл. 41 – $42^\circ C$. 1H -ЯМР (CD_3OD): 4.58 (1 H, уш.с, NH); 3.26 (2 H, м, $NHCH_2$); 3.16 (2 H, т, J 6.5,

CH_2I); 2.06–1.98 (2 H, м, $CH_2CH_2CH_2$); 1.48 (9 H, с, $C(CH_3)_3$).

Смесь 1.3 г (2.2 ммоль) соединения (**V**), 1.19 г (8.64 ммоль) K_2CO_3 и 0.8 г (2.8 ммоль) $WocNH(CH_2)_3I$ в 10 мл DMF перемешивали 24 ч при комнатной температуре, осадок отделяли и фильтрат упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в $CHCl_3$, промывали последовательно H_2O (2×5 мл), насыщ. $NaCl$ (2×5 мл) и сушили над $MgSO_4$. Раствор упаривали в вакууме досуха, неочищенный 1-(N-трет-бутилоксикарбонил)амино-4-(N-2-нитробензолсульфонил)аза-5-окса-9-(N-бензилоксикарбонил)аза-12-(N-бензилоксикарбонил)аминододекан (**VI**) растворяли в 30 мл DMF, прибавляли 1.2 г (8.72 ммоль) K_2CO_3 , 0.27 мл (2.6 ммоль) $PhSH$ и перемешивали 4 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь упаривали в вакууме досуха, остаток суспандировали в $CHCl_3$, осадок отделяли центрифугированием, промывали небольшим количеством $CHCl_3$ и объединенные органические растворы промывали последовательно H_2O (5 мл), 10% раствором лимонной кислоты (2×10 мл), 1 М $NaHCO_3$ (2×10 мл) и H_2O (10 мл). Органический растворитель упаривали в вакууме досуха, остаток растворяли в 6 мл смеси $CHCl_3$ –MeOH, 100 : 1, и очищали колоночной хроматографией на силикагеле (60 г), элюируя смесь $CHCl_3$ –MeOH, 100 : 1, и высушивали в вакууме над P_2O_5 . Получили 0.58 г (46%) соединения (**VII**) в виде густого масла. R_f 0.37 (A). 1H -ЯМР ($CDCl_3$): 7.36–7.26 (10 H, м, Ph); 5.12 (2 H, с, CH_2Ph); 5.09 (2 H, с, CH_2Ph); 3.62 (2 H, м, $HNOCH_2(CH_2)_2NHCbz$); 3.34–3.28 (4 H, м, $CH_2N(CH_2)_2CH_2$); 3.23–3.11 (4 H, м, $WocNHCH_2$ + CH_2NHCbz); 2.86 (2 H, м, $WocNH(CH_2)_2CH_2NHO$); 1.78–1.60 (6 H, м, $WocNHCH_2CH_2CH_2NHO$ + $HNOCH_2CH_2CH_2N$ + $NCH_2CH_2CH_2NHCbz$); 1.41 (9 H, с, $C(CH_3)_3$).

Тетрагидробромид 1,12-диамино-4,9-диаза-5-оксадодекана (I). К раствору 0.58 г (1.01 ммоль) соединения (**VII**) в 5 мл $AcOH$ прибавляли 3 мл 32.3% $NH_4Br/AcOH$ и оставляли при комнатной температуре до прекращения выделения CO_2 . Выпавший осадок отделяли, промывали Et_2O , сушили в вакууме над P_2O_5/KOH и получили 0.36 г (69%) соединения (**I**). R_f 0.27 (B); т. пл. 169 – $171^\circ C$ (с разл.). Найдено, %: C 20.51, H 5.28, N 10.50. $C_9H_{28}Br_4N_4O$. Вычислено, %: C 20.47, H 5.35, N 10.61. 1H -ЯМР (D_2O): 4.11 (2 H, т, J 6.0, $HNOCH_2$); 3.31 (2 H, т, J 7.6, $OHNCH_2CH_2CH_2NH_2$); 3.17 (2 H, т, J 7.9, $HNO(CH_2)_2CH_2NH_2$); 3.14 (2 H, т, J 8.0, $CH_2HN(CH_2)_2CH_2NH_2$); 3.08 (2 H, т, J 7.4, $HNOCH_2CH_2CH_2$); 3.07 (2 H, т, J 7.4, $CH_2HNCH_2(CH_2)_2NH_2$); 2.10–2.01 (6 H, м, $OHNCH_2CH_2CH_2NH_2$ + $HNOCH_2CH_2$ + $CH_2HNCH_2CH_2CH_2NH_2$). ^{13}C -ЯМР (D_2O): 73.83 (т, $HNOCH_2$); 49.84 (т, $OHNCH_2CH_2CH_2NH_2$); 47.79 (т, $HNOCH_2CH_2CH_2$); 47.62 (т, $CH_2HNCH_2(CH_2)_2NH_2$); 40.09 (т, $HNO(CH_2)_2CH_2NH_2$); 39.52 (т, $CH_2HN(CH_2)_2CH_2NH_2$); 27.48 (т, $HNOCH_2CH_2$);

26.73 (т, $\text{CH}_2\text{HNCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$); 25.56 (т, $\text{OHNCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$).

3-(*N*-трет-Бутилоксикарбонил)аминопропанол (VIII). К раствору 0.5 г (7 ммоль) 3-аминопропанола в 7 мл THF прибавляли раствор 1.5 г (7 ммоль) Vos_2O в 7 мл THF и оставляли на 12 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь упаривали в вакууме досуха, остаток растворяли в CHCl_3 и промывали последовательно 10% лимонной кислотой (2 × 5 мл), 1 М NaHCO_3 (2 × 5 мл) и H_2O (5 мл). Органический растворитель упаривали в вакууме досуха, остаток высушивали в вакууме над P_2O_5 и получили 1 г (82%) соединения (VIII) в виде густого масла. R_f 0.5 (Г). ^1H -ЯМР (CDCl_3): 4.82 (1 Н, с, NH); 3.65 (2 Н, м, CH_2OH); 3.27 (2 Н, м, NHCH_2); 3.08 (1 Н, с, OH); 1.65 (2 Н, м, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{OH}$); 1.43 (9 Н, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$).

О-(7-Амино-4-аза)гептилоксим 3-(*N*-трет-бутилоксикарбонил)аминопропанола (IX). К раствору 0.7 г (4 ммоль) соединения (VIII) в 40 мл абс. C_6H_6 прибавляли 7 г хлорхромата пиридиния на нейтральной Al_2O_3 и перемешивали 4 ч при 20°C. Осадок отделяли, фильтрат упаривали в вакууме досуха, остаток растворяли в 5 мл MeOH и прибавляли нейтральный раствор 0.256 г (1 ммоль) тригидрохлорида 7-аминокси-4-аза-1-аминогептана в 10 мл 50% MeOH. Реакционную смесь перемешивали 2 ч при комнатной температуре, затем упаривали в вакууме досуха, остаток растворяли в 6 мл смеси диоксан–25% NH_4OH , 9.5 : 0.5, и очищали колоночной хроматографией на силикагеле (60 г), элюируя последовательно смесью диоксан–25% NH_4OH , 9.5 : 0.5, и диоксан–25% NH_4OH , 8 : 2. После высушивания остатка в вакууме над P_2O_5 получили 0.2 г (66%, считая на тригидрохлорид 7-аминокси-4-аза-1-аминогептана) соединения (IX) в виде густого масла. R_f 0.5 (Д). Изомер I: ^1H -ЯМР (CDCl_3): 7.38 (1 Н, т, J 5.4, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NO}$); 4.09 (2 Н, т, J 6.2, $\text{NOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$); 3.32 (2 Н, уш. м, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NO}$); 2.79 (2 Н, т, J 6.3, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$); 2.70 (4 Н, м, $\text{NHCH}_2(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2 + \text{NO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{NH}$); 2.37 (2 Н, тд, J 5.9, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NO}$); 1.83 (2 Н, м, $\text{NOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$); 1.66 (2 Н, м, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$); 1.44 (9 Н, с, $\text{C}(\text{CH}_3)_3$); изомер II: ^1H -ЯМР (CDCl_3): 6.69 (1 Н, т, J 5.5, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NO}$); 4.14 (2 Н, т, J 6.1, $\text{NOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$); 3.28 (2 Н, уш. м, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NO}$); 2.51 (2 Н, тд, J 5.9, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NO}$); 1.86 (2 Н, м, $\text{NOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$); хим. сдвиги остальных сигналов совпадают с хим. сдвигами сигналов изомера I. Соотношение изомер I/изомер II составило 60 : 40.

Тригидрохлорид О-(7-амино-4-азагептил)оксим 3-аминопропанола (II). К охлажденному до 0°C раствору 0.15 г (0.5 ммоль) соединения (IX) в 5 мл абс. MeOH прибавляли 5 мл 4 М HCl/MeOH и оставляли на ночь при 4°C. Реакционную смесь упаривали в вакууме досуха, остаток соупаривали с

MeOH, перекристаллизовали из MeOH/EtOH и высушивали в вакууме над $\text{P}_2\text{O}_5/\text{KOH}$. Получили 0.106 г (68%) соединения (II). R_f 0.1 (Д); т. пл. 193–194°C (с разл.). Найдено, %: С 34.84, Н 8.11, N 17.54. $\text{C}_9\text{H}_{25}\text{Cl}_3\text{N}_4\text{O}$. Вычислено, %: С 34.68, Н 8.08, N 17.98. Изомер I: ^1H -ЯМР (D_2O): 7.59 (1 Н, т, J 5.3, $\text{CH}=\text{NO}$); 4.18 (2 Н, т, J 6.0, NOCH_2); 3.26 (2 Н, т, J 7.0, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NO}$); 3.22–3.16 (4 Н, м, $\text{NHCH}_2(\text{CH}_2)_2\text{NH}_2 + \text{NO}(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2\text{NH}$); 3.12 (2 Н, т, J 5.7, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2$); 2.65 (2 Н, тд, J 7.0, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NO}$); 2.15–2.04 (4 Н, м, $\text{NHCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}_2 + \text{NOCH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{NH}$). ^{13}C -ЯМР (D_2O): 152.58 (д, N=CH); 73.24 (т, CH_2O); 48.10 (т, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{O}$); 47.48 (т, $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$); 39.43 (т, $\text{NH}_2\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2$); 39.10 (т, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{N}$); 29.86 (т, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{N}$); 28.04 (т, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$); 26.57 (т, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); изомер II: ^1H -ЯМР (D_2O): 6.96 (1 Н, т, J 5.5, $\text{CH}=\text{NO}$); 4.23 (2 Н, т, J 6.0, NOCH_2); 3.24 (2 Н, т, J 7.3, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NO}$); 2.77 (2 Н, тд, J 7.3, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{NO}$); ^{13}C -ЯМР (D_2O): 151.95 (д, N=CH); 73.34 (т, CH_2O); 47.96 (т, $\text{CH}_2(\text{CH}_2)_2\text{O}$); 47.45 (т, $\text{NH}_2(\text{CH}_2)_2\text{CH}_2$); 39.14 (т, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}=\text{N}$); 28.26 (т, $\text{CH}_2\text{CH}_2\text{O}$); 26.68 (т, $\text{CH}_2\text{CH}=\text{N}$); 26.60 (т, $\text{NH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2\text{CH}_2$); хим. сдвиги остальных сигналов совпадают с хим. сдвигами сигналов изомера I. Соотношение изомер I/изомер II составило 65 : 35.

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

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Seiler N. // *Curr. Drug Targets*. 2003. V. 4. P. 537–564.
2. Seiler N. // *Curr. Drug Targets*. 2003. V. 4. P. 565–585.
3. Casero R.A., Woster P.M. // *J. Med. Chem.* 2001. V. 44. P. 1–26.
4. Cohen S.S. *A Guide to the Polyamines*. New York: Oxford University Press, 1998.
5. Bey P., Bolkenius F.N., Seiler N., Casara P. // *J. Med. Chem.* 1985. V. 28. P. 1–2.
6. Wang Y., Devereux W., Woster P.M., Murray-Stewart T., Hacker A., Casero R.A. // *Cancer Res.* 2001. V. 61. P. 5370–5373.
7. Murray-Stewart T., Wang Y., Devereux W., Casero R.A. // *Biochem. J.* 2002. V. 368. P. 673–677.
8. Wang Y., Murray-Stewart T., Devereux W., Hacker A., Frydman B., Woster P.M., Casero R.A. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 2003. V. 304. P. 605–611.
9. Devereux W., Wang Y., Murray-Stewart T., Hacker A., Smith R., Frydman B., Valasinas A.L., Reddy V.K., Marton L.J., Ward T.D., Woster P.M., Casero R.A. // *Cancer Chem. Pharm.* 2003. V. 52. P. 383–390.
10. Vujcic S., Diegelman P., Bacchi C.J., Kramer D.L., Porter C.W. // *Biochem. J.* 2002. V. 367. P. 665–675.
11. Cervelli M., Politicelli F., Federico R., Mariottini P. // *J. Biol. Chem.* 2003. V. 278. P. 5271–5276.

12. Federico R., Leone L., Botta M., Binda C., Angelini R., Venturini G., Ascenzi P. // *J. Enzyme Inhib.* 2001. V. 16. P. 147–155.
13. Binda C., Angelini R., Federico R., Ascenzi P., Mattevi A. // *Biochemistry.* 2001. V. 40. P. 2766–2776.
14. Templeton D.M., Sarkar B. // *Can. J. Chem.* 1985. V. 63. P. 3122–3128.
15. Wolfenden R. // *Annu. Rev. Biophys. Bioeng.* 1976. V. 5. P. 271–306.
16. Lee Y.B., Park M.H., Folk J.E. // *J. Med. Chem.* 1995. V. 38. P. 3053–3061.
17. Lin P.K., Maguire N.M., Brown D.M. // *Tetrahedron Lett.* 1994. V. 35. P. 3605–3608.
18. Kuksa V., Buchan R., Lin P.K. // *Synthesis.* 2000. № 9. P. 1189–1207.
19. Siaugue J.-M., Segat-Dioury F., Favre-Reguillon A., Madić Ch., Foos J., Guy A. // *Tetrahedron Lett.* 2000. V. 41. P. 7443–7446.
20. Fukuyama T., Jow Ch.K., Cheung M. // *Tetrahedron Lett.* 1995. V. 36. P. 6373–6374.
21. Khomutov A.R., Vepsalainen J., Shvetsov A.S., Hyvonen T., Keinanen T.A., Pustobaev V.N., Eloranta T.O., Khomutov R.M. // *Tetrahedron.* 1996. V. 52. P. 13751–13766.
22. Тунце Л., Айхер Т. Препаративная органическая химия. Реакции и синтезы в практикуме органической химии и научно-исследовательской лаборатории: Пер. с нем. М.: Мир, 1999. С. 120.

New Oxaanalogues of Spermine

A. R. Khomutov[#], A. R. Simonyan^{*}, J. Vepsalainen^{},
T. A. Keinanen^{***}, L. Alhonen^{***}, and J. Janne^{***}**

[#]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,
P. O. Box 1627, Kuopio, FIN-70211 Finland

^{***}Virtanen Institute for Molecular Sciences, University of Kuopio,
P. O. Box 1627, Kuopio, FIN-70211 Finland

A new isosteric charge-deficient spermine analogue, 1,12-diamino-4,9-diaza-5-oxadodecan, and *O*-(7-amino-4-azaheptyl)oxime of 3-aminopropanal, a stable analogue of the Schiff base intermediate in the enzymatic oxidation of spermine, were synthesized. The possible use of these compounds for the inhibition of spermine oxidase is discussed. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2005, vol. 31, no. 2; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: oxaspermine, polyamine analogues, polyamines, spermine oxidase