



УДК 577.113.3:542.95:547.425.7

S,X-АЦЕТАЛИ В ХИМИИ НУКЛЕОЗИДОВ. II. СИНТЕЗ 3'-O-МЕТИЛТИОМЕТИЛЬНЫХ ПРОИЗВОДНЫХ РИБОНУКЛЕОЗИДОВ

© 2000 г. А. Е. Печенов*, С. Г. Завгородний#, В. И. Швец*, А. И. Мирошников

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;* Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, Москва,
117571, просп. Вернадского, 86

Поступила в редакцию 14.12.99 г. Принята к печати 17.01.2000 г.

3'-O-Метилтиометильные производные рибонуклеозидов были получены действием на специфически защищенные нуклеозиды смеси диметилсульфида и перекиси бензоила в ацетонитриле либо смеси диметилсульфооксида, уксусного ангидрида и уксусной кислоты.

Ключевые слова: рибонуклеозиды; метилтиометилирование; тиаоацетали; Пуммерера перегруппировка.

В последние годы ряд лабораторий мира уделяет значительное внимание разработке методов синтеза и изучению свойств O-метилтиометильных производных нуклеозидов [2–13]. Особое значение эта проблема приобрела после сообщений об использовании обширных синтетических возможностей O,S-ацеталей в ряду нуклеозидов [3–8, 11].

Основными методами введения O-метилтиометильной группы в молекулу нуклеозидов являются следующие:

1. Использование системы диметилсульфид–перекись бензоила [3, 4, 13].

2. Применение классической перегруппировки Пуммерера (система диметилсульфоксид–уксусный ангидрид) либо в классическом варианте в присутствии третичных спиртов [8], либо в модифицированном – с участием первичных и вторичных спиртов с добавлением уксусной кислоты [5–7, 11] для подавления процесса окисления, резко снижающего выход целевых продуктов [14, 15].

3. Обработка метилтиометилхлоридом соответствующих алкоголятов [2, 11].

Метод 1 [16] был использован для синтеза 3'- и 5'-O-метилтиометильных производных нуклеозидов дезоксирибо-ряда [3, 4], а также 2'-O-метилтиометильных производных рибонуклеозидов [12].

Метод 2 был успешно применен для получения 3'- и 5'-O-метилтиометильных производных дез-

оксирибонуклеозидов и 2'- и 5'-O-метилтиометильных производных рибонуклеозидов [1, 5–7].

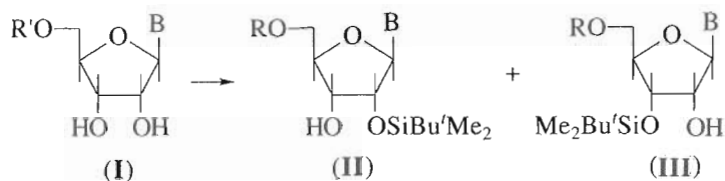
Метод 3 вызвал в литературе определенную дискуссию [3, 4] и, видимо, применительно к нуклеозидам не может иметь общего характера, несмотря на последовавшие после этой дискуссии попытки совершенствования данного метода [10, 11].

Поскольку данные по применению 1-го и 2-го методов метилтиометилирования в синтезе 2'-O-метилтиометильных производных рибонуклеозидов показали примерно одинаковую эффективность [1, 12], в данной работе мы сравнили оба метода при получении 3'-O-метилтиометильных производных рибонуклеозидов.

2',5'-O-Дизащищенные производные были получены по аналогии с работой [17] действием на исходные рибонуклеозиды (Ia)–(Iж) трет-бутилдиметилсилилхлорида, нитрата серебра и пиридина в тетрагидрофуране (схема 1) и последующим разделением образующейся смеси изомеров (II) и (III). Соединения (IIa) и (IIв) выделены как описано в работах [17, 18]; изомеры (IIб) и (IIIб) разделены перекристаллизацией. Применение различающихся защитных групп для 2'- и 5'-гидроксильных групп более целесообразно с точки зрения дальнейшего использования полученных O,S-ацеталей в синтезе других производных нуклеозидов. Диметокситригидратная защита для 5'-гидроксила [17] в нашем случае, учитывая данные работы [7], не удовлетворяет требованиям последующей модификации метилтиометильных групп, поэтому для этих целей нами была выбрана ацетильная группа. Силированием соединений (Iг)–(Iж) получали смеси

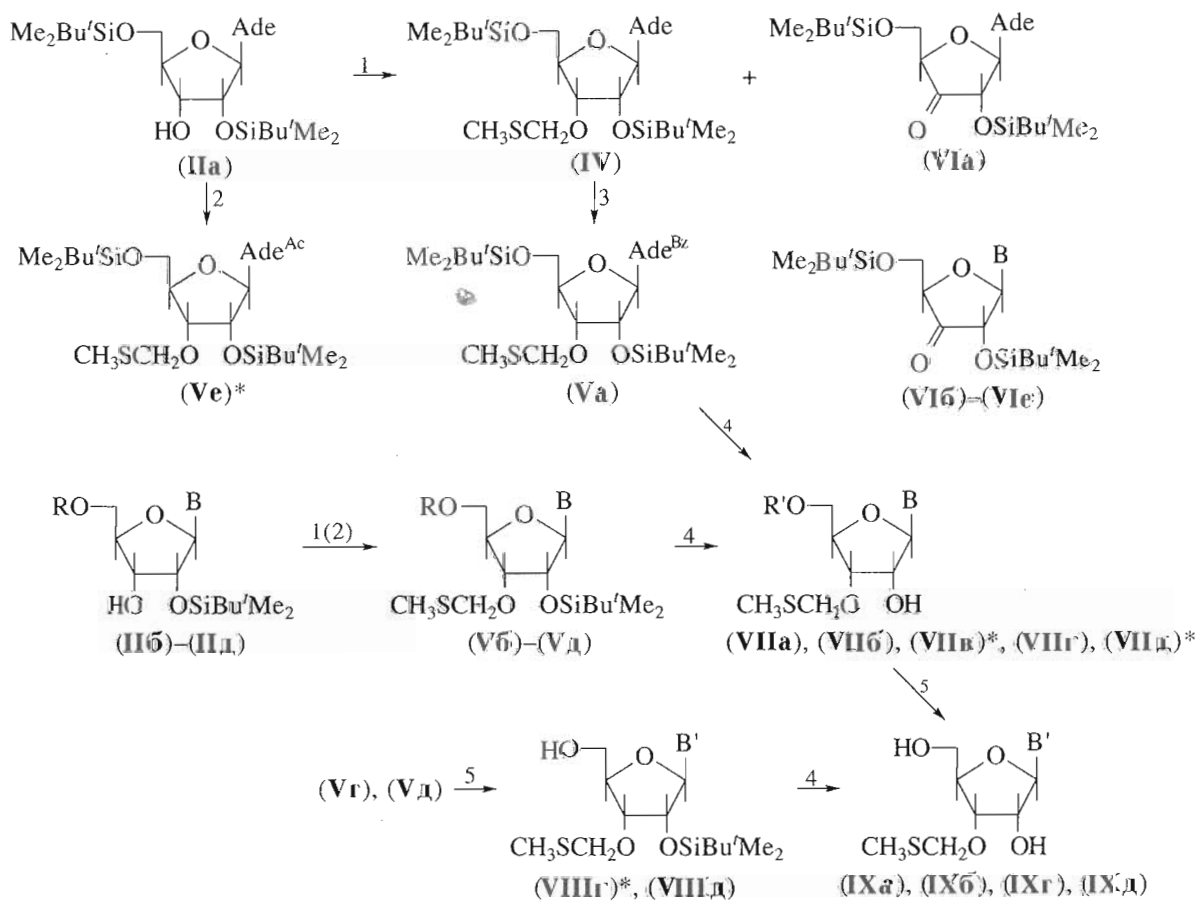
Сообщение I см. [1].

Автор для переписки (тел.: (095) 330-72-47; e-mail: kou@ibch.siobc.ras.ru).



а: B = Ade, R' = H, R = SiBu'Me₂; г: B = BzCyt, R' = R = Ac;
 б: B = BzGua, R' = H, R = SiBu'Me₂; д: B = Ura, R' = R = Ac;
 в: B = BzCyt, R' = H, R = SiBu'Me₂; е: B = BzAde, R' = R = Ac;
 ж: B = IbGua, R' = R = Ac;
 Ib – изобутирил

Схема 1.



а: B = BzAde, B' = Ade, R = SiBu'Me₂, R' = H; г: B = BzCyt, B' = Cyt, R = R' = Ac;
 б: B = BzGua, B' = Gua, R = SiBu'Me₂, R' = H; д: B = B' = Ura, R = R' = Ac;
 в: B = BzCyt, B' = Cyt, R = SiBu'Me₂, R' = H; е: B = AcAde, R = SiBu'Me₂.
 1 – Me₂S, (BzO)₂/CH₃CN; 2 – DMSO, Ac₂O, AcOH; 3 – BzCl/Py; 4 – Bu₄N⁺F⁻/THF; 5 – NH₃/MeOH.
 THF – тетрагидрофуран.

* Соединения получены и охарактеризованы, но не вводились в дальнейшие превращения.

Схема 2.

Таблица 1. Метилтиометилирование 3'-гидроксильных групп рибонуклеозидов

Продукт	Исходное соединение	Загрузка		Метод	Выход, %	Т. пл., °С	R _f (система)
		г	ммоль				
(IV)	(IIa)	0.99	1.0	1	64	133.5–134 ^{2*}	0.60 (A)
(VIa)					20	165–167 ^{2*}	0.56 (A)
(Va)	(IV)	1.25	2.24	BzCl	98	–	–
(Vб)	(IIб)	1.23	2.0	1	62	149.5–150 ^{3*}	0.71 (A)
		0.62	1.0	2	52		
(Vв)	(IIв)	1.73	3.0	1	52		0.56 (B)
(VIв)*					25	174–176 ^{4*}	0.52 (B)
(Vг)	(IIг)	1.42	2.81	1	46	–	0.54 (B)
		0.51	1.0	2	36		
(Vд)	(IIд)	1.60	4.0	1	46	–	0.66 (A)
		0.37	0.91	2	37		
(Ve)	(IIa)	0.22	0.44	2	37	66–68 ^{5*}	0.74 (A)

* Кетонуклеозид (VIв) получен как побочный продукт на стадии хроматографической очистки реакционной смеси после метилтиометилирования.

2* Ацетонитрил.

3* Тoluол–гексан.

4* Хлороформ–гексан.

5* Гексан.

изомеров, причем разделить удалось только пары 2'-, 3'-изомеров (IIIг), (IIIг) и (IIIд), (IIIд). Соединения (IIIг) и (IIIд) были использованы в дальнейшем синтезе.

Метилтиометилирование нуклеозидов (IIa)–(IIIд) (схема 2) проводили методами 1 и 2 (см. выше). Относительно низкие выходы при использовании метода 2 (табл. 1) можно объяснить более жесткими условиями и медленным протеканием реакции по сравнению с методом 1. Метод 1 позволяет получить 3'-O-метилтиометильные производные с более высокими выходами, однако в случае обоих методов метилтиометилирование протекает с меньшей эффективностью, чем для 2'-O-метилтиометильных производных (ср. [1, 12]). Тип 5'-O-защитной группы также влияет на выход продукта (см. работу [14]), что показано на примере превращений (IIв) → (Vв) и (IIIг) → (Vг) (табл. 1).

В процессе реакции метилтиометилирования методами 1 и 2 наряду с целевым продуктом (IV), (Vб)–(Ve) всегда образуется побочный продукт – соответствующий защищенный кетонуклеозид (VI), который в большинстве случаев не удается отделить обычной хроматографией на колонках с силикагелем от основного продукта. Нами выделены два таких продукта окисления – соединения (VIa) и (VIв), однако проблему получения чистых целевых продуктов синтеза удалось решить используя нестабильность соединений (VI), особенно в щелочных условиях [14]. Для этого смеси, полученные после метилтиометилирования ме-

тодом 1 и предварительной хроматографической очистки, выдерживали в 10% растворе триэтиламина в сухом тетрагидрофуране в течение 1–2 сут. При этом кетонуклеозиды разрушались, выпадали осадки соответствующих нуклеиновых оснований (их идентифицировали ТСХ со свидетелем) и смеси приобретали цвет от коричневого до черного из-за деструкции второго продукта β-элиминирования – неопредельного кетосахара [14]. В более жестких условиях метода 2 разрушение этих побочных продуктов происходит в ходе реакции и завершается в процессе обработки реакционных смесей.

Продукты (V), получаемые при метилтиометилировании методами 1 и 2, идентичны (ТСХ и ЯМР). Исключение составляет трансформация нуклеозид (IIa) методом 2, при которой протекают одновременно два процесса: метилтиометилирование 3'-гидроксила и ацетилирование аминогруппы основания с образованием продукта (Ve). В условиях же метода 1 из производного (IIa) получили продукт (IV), который после соответствующей очистки был переведен в N-бензоильное производное (Va) с практически количественным выходом.

Снятие силильных и ацильных защитных групп дало набор частично (соединения (VIIa)–(VIIд), (VIIIг), (VIIIд)) и полностью (соединения (IXа), (IXб), (IXг), (IXд)) деблокированных 3'-O-метилтиометильных производных нуклеозидов.

Таблица 2. Выходы и физико-химические характеристики 3'-O-метилтиометильных производных нуклеозидов

Соединение	Исходное	Загрузка		Метод выделения*	Выход, %	Т. пл., °С (метанол)	УФ-спектр ^{2*} , λ _{макс} , нм (ε)	Масс-спектр
		мг	ммоль					
(IXa)	(VIIa)	110	0.255	В	85	207–208	257.0(14600) 259.4(14600) 259.4(14800)	328.1 (M + H) ⁺
(IXб)	(VIIб)	323	0.722	В	85	235–236 ^{3*}	256.4(12000) 252.6(13400) 264.6(11300)	344.1 (M + H) ⁺
(IXг)	(VIIг)	200	0.455	Г	98	–	279.4(13000) 270.4(8900) 271.6(8900)	304.2 (M + H) ⁺ 326.1 (M + Na) ⁺ 342.2 (M + K) ⁺
(IXд)	(VIIд)	350	0.836	Б	87	143–144	260.8(10100) 261.2(10100) 262.4(7000)	304.2 (M) ⁺ 327.1 (M + Na) ⁺

* См. "Эксперимент. часть".

^{2*} Для каждого соединения приведены параметры УФ-спектра при pH 1, pH 7 и pH 13.^{3*} Метанол–вода.

Структура синтезированных метилтиометильных производных (IV), (Va)–(Ve), (VIIa)–(VIIд), (VIIг), (VIIд) и (IXa), (IXб), (IXг), (IXд) убедительно подтверждается их физико-химическими характеристиками (табл. 2, 3).

В ¹H-ЯМР-спектрах всех полученных соединений присутствуют сигналы протонов CH₂S- и OCH₂S-групп, протонов основания, сахарного остатка и защитных групп (табл. 3). Характеристичным является сигнал 3'-протона – дублет дублетов, либо псевдотриплет – как у защищенных, так и у деблокированных производных. Сигнал 2'-протона при снятии защиты с 2'-гидроксила трансформируется из дублета дублетов (псевдотриплет) в мультиплет. Можно отметить, что в сравнении со спектрами аналогичных 2'-O-метилтиометильных производных рибонуклеозидов [1] положение сигналов остальных групп практически не меняется.

Полученные конечные продукты (IXa), (IXб), (IXг), (IXд) охарактеризованы методами масс-спектрометрии и УФ-спектрометрии (табл. 2). УФ-спектры производных (IXa), (IXб), (IXг), (IXд) свидетельствуют о незатронутости нуклеинового основания.

Таким образом, нами показано, что метилтиометилирование с использованием систем диметилсульфид–перекись бензоила или диметилсульфоксид–уксусный ангидрид–уксусная кислота позволяет получить 3'-O-метилтиометильные производные рибонуклеозидов с удовлетворительными выходами, причем предпочтителен первый метод.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Температуры плавления неисправлены. ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck, Германия) в системах: хлороформ–метанол 9 : 1 (А); хлороформ–метанол 27 : 1 (Б); а колоночную хроматографию – на силикагеле L 40/100 (Kavalier, Чехословакия). В работе использовали нуклеозиды, дауэкс 50W × 8-200, триметилхлорсилан (Sigma, США), *трет*-бутилдиметилсилилхлорид, тригидрат тетрабутиламмонийфторида, перекись бензоила (Fluka, Швейцария); диметилсульфоксид (Merck, ФРГ). Остальные реактивы и растворители – отечественные.

УФ-спектры снимали на спектрофотометре Shimadzu UV-160 (Япония), ¹H-ЯМР-спектры – на спектрометре Bruker DRX-500 (ФРГ), а масс-спектры – на спектрометре Vision 2000 (метод MALDI TOF) (Thermo Bioanalysis Corp., Англия).

Нуклеозиды (Ia)–(Iв) синтезировали с выходами 75–80% как описано в работе [19]. Соединения (Iг), (Iе) и (Iж) получены из соответствующих защищенных по экзоциклической аминогруппе основания нуклеозидов, а соединение (Iд) – из уридина с использованием этоксиметилиденовой защиты для 2'- и 3'-гидроксилов [20] по аналогии с работами [21, 22] с выходами 50–70%.

Силилирование нуклеозидов (Ia)–(Iж) проводили по аналогии с работой [17]. К суспензии 1 ммоль нуклеозида в 10 мл тетрагидрофурана добавляли (из расчета на каждую вводимую силильную группу) *трет*-бутилдиметилсилилхлорид (1.2 ммоль), а затем при перемешивании по каплям – раствор нитрата серебра (1.2 ммоль)

Таблица 3. Спектры ¹H-ЯМР 3'-O-метилтиометильных производных рибонуклеозидов

Соединение	H8 (J _{6,5})	H5 или H2	OCH ₂ S (J _{a,b})	SCH ₃	H1' (J _{1,2})	H2' (J _{2,3})	H3' (J _{3,4})	H4'	H5' (J _{H5'a,H5'b} , J _{4,5a} , J _{4,5b})	Прочие
(IV)	8.34с	8.17с	4.84; 4.70дд (11.8)	2.17с	6.07д (5.2)	4.76пт (4.7)	4.40пт (3.3)	4.25м	4.03; 3.84дд (11.3; 3.4; 2.7)	5.50 (NH ₂); 0.97, 0.81 (2 × Bu'Si); -0.16, 0.15, -0.03, -0.17 (4 × MeSi)
(Va)	8.82с	8.38с	4.85; 4.70дд (11.5)	2.18с	6.16д (4.9)	4.76пт (4.9)	4.41пт (3.3)	4.28м	4.04; 3.87дд (11.4; 3.3; 2.7)	9.02 (NH); 8.07-7.50 (Ph); 0.98, 0.81 (2 × Bu'Si); 0.17, 0.16, -0.02, -0.18 (4 × MeSi)
(Vб)	8.04с	-	4.88; 4.73дд (11.6)	2.19с	5.93д (5.8)	4.54пт (4.6)	4.46пт (3.0)	4.24м	3.94; 3.83дд (11.6; 2.4; 2.0)	12.10, 8.59 (2 × NH); 7.92-7.54 (Ph); 0.95, 0.83 (2 × Bu'Si); 0.14, 0.14, 0.00, -0.16 (4 × MeSi)
(Vв)	8.59д (7.0)	~7.5*	4.75; 4.53дд (11.6)	2.14с	5.87с	4.34д (4.0)	4.23дд (8.0)	4.30д	4.14; 3.84дд (11.6; <1)	8.75 (NH); 7.95-7.50 (Ph); 0.99, 0.93 (2 × Bu'Si); 0.26, 0.18, 0.16, -0.14 (4 × MeSi)
(Vг)	8.29д (7.3)	~7.5*	4.75; 4.43дд (11.9)	2.18с	5.76с	4.44д (4.0)	4.09дд (8.8)	4.49дпт	4.53; 4.39дд (12.5; 3.3; 1.5)	8.80 (NH); 7.90-7.50 (Ph); 2.10 (CH ₃ CO); 0.95 (Bu'Si); 0.28, 0.16 (2 × MeSi)
(Vд)	7.67д (8.2)	5.73д	4.79; 4.53дд (11.9)	2.13с	5.73д** (2.4)	4.32м*** (4.5)	4.13дд (7.0)	4.37м	4.45; 4.33дд (12.5; 3.7; 2.5)	8.05 (NH); 2.13 (CH ₃ CO); 0.92 (Bu'Si); 0.15, 0.11 (2 × MeSi)
(Ve)	8.67с	8.36с	4.84; 4.67дд (11.7)	2.17с	6.13д (5.0)	4.72пт (4.6)	4.40пт (4.1)	4.27м	4.04; 3.85дд (11.5; 3.2; 2.8)	8.48 (NH); 2.62 (CH ₃ CO); 0.98, 0.81 (2 × Bu'Si); 0.17, 0.16, -0.02, -0.18 (4 × MeSi)
(VIa)	8.77с	8.73с	4.87; 4.83дд (11.5)	2.16с	6.07д (6.4)	4.86м (4.9)	4.39дд (3.4)	4.13м	3.73; 3.62ддд (12.2; 4.3; 3.7)	11.20 (NH); 8.08-7.53 (Ph); 5.73 (2'-OH); 5.27 (5'-OH)
(VIб)	8.31с	-	4.85; 4.82дд (11.6)	2.15с	5.92д (6.7)	4.69м (4.9)	4.32дд (2.8)	4.05м	3.68; 3.59м (12.2)	12.37, 11.94 (2 × NH); 8.09-7.53 (Ph); 5.66 (2'-OH); 5.19 (5'-OH)
(VIв)	8.49д (7.3)	7.35д	4.78; 4.70дд (11.3)	2.11с	5.83д (3.4)	4.26м (4.9)	4.16пт (5.8)	4.06м	3.76; 3.60ддд (11.9; 3.4; 3.1)	11.20 (NH); 8.08-7.53 (Ph); 5.27 (5'-OH); 5.59 (2'-OH)
(VIг)	8.11д (7.0)	~7.6*	4.81; 4.76дд (11.9)	2.19с	5.86д (2.8)	4.45м	4.27м	4.43-4.39м	8.75 (NH); 7.95-7.50 (Ph); 3.86 (2'-OH); 2.14 (CH ₃ CO)	8.75 (NH); 7.95-7.50 (Ph); 3.86 (2'-OH); 2.14 (CH ₃ CO)
(VIд)	7.45д (8.0)	5.75д	4.78с	2.21с	5.75д** (3.6)			4.42-4.26м		8.53 (NH); 3.17 (2'-OH); 2.13 (CH ₃ CO)
(VIe)	7.87д (7.5)	5.73д	4.78; 4.70дд (11.6)	2.10с	5.79д (5.2)	4.33пт (4.6)	4.12пт (4.3)	3.99м	3.67; 3.57ддд (11.6; 3.4; 3.0)	7.14 (NH ₂); 5.19 (5'-OH); 0.83, 0.02, 0.00 (Bu'Si, 2 × MeSi)
(VIж)	7.65д (8.2)	5.73д	4.84; 4.64дд (11.5)	2.19с	5.56д (4.9)	4.60пт (4.1)	4.24-4.20м		3.98; 3.80ддд (12.4; 2.5; 1.6)	8.01 (NH); 2.78 (5'-OH); 0.90, 0.10, 0.08 (Bu'Si, 2 × MeSi)
(VIз)	8.36с	8.15с	4.87; 4.82дд (11.5)	2.15с	5.90д (6.7)	4.80м (4.9)	4.33дд (2.8)	4.10м	3.70; 3.59ддд (11.9; 3.2; 3.7)	7.35 (NH ₂); 5.61 (2'-OH); 5.56 (5'-OH)
(VIи)	7.96с	-	4.84; 4.80дд (11.3)	2.14с	5.72д (6.4)	4.59м (4.9)	4.27дд (3.3)	4.00м	3.63; 3.56ддд (11.9; 4.3; 3.7)	10.60 (NH); 6.47 (NH ₂); 5.56 (2'-OH); 5.16 (5'-OH)
(VIк)	7.85д (7.3)	5.75д	4.79; 4.72дд (11.6)	2.12с	5.79д (4.9)	4.16м (4.9)	4.12пт (4.9)	3.96м	3.67; 3.55ддд (11.9; 3.1; 3.4)	7.16 (NH ₂); 5.42 (2'-OH); 5.16 (5'-OH)
(VIл)	7.88д (8.2)	5.68д	4.82; 4.75дд (11.5)	2.12с	5.80д (5.8)	4.23м (4.9)	4.17пт (3.7)	3.98м	3.64; 3.57ддд (12.2; 3.4; 3.1)	11.34 (NH); 5.52 (2'-OH); 5.21 (5'-OH)

Спектры соединений (IV), (Va)-(Ve), (VIг), (VIд), (VIж), (VIи), (VIк), (VIл) сняты в CDCl₃; соединений (VIа)-(VIв), (VIз), (VIи), (VIк), (VIл) в DMSO-d₆. Приведены химические сдвиги (δ, м.д.) и константы спин-спинового взаимодействия (J ц). Интегральные интенсивности соответствуют числу указанных протонов. * Наложение Ph. ** Наложение H₅. *** Наложение H₅b. Вид сигналов: с – синглет; д – дублет; дд – дублет дублетов; пт – мультиплет; NH, NH₂ – уширенные синглеты; CH₃CO, CH₃, Bu'Me₂Si – синглеты; 2'-OH – дублет дублетов; 5'-OH – триплет или уширенный синглет.

в 1 мл абсолютного пиридина. Смесь перемешивали при 20°C 2–4 ч (контроль ТСХ), при необходимости прибавляли дополнительное количество силилирующей смеси. Осадок хлорида серебра отфильтровывали и раствор упаривали. К остатку добавляли 10 мл водного раствора NaHCO_3 и экстрагировали хлороформом (3 × 10 мл). Объединенные хлороформные экстракты сушили Na_2SO_4 , упаривали и очищали хроматографией на силикагеле. Условия разделения смеси изомеров (II) и (III) приведены ниже.

2',5'-Ди-*O*-трет-бутилдиметилсилиладенозин (IIa) и 3',5'-ди-*O*-трет-бутилдиметилсилиладенозин (IIIa) получали из нуклеозида (Ia). Смесь изомеров разделяли хроматографией на силикагеле в эфире, выход соединения (IIa) 61.3% (R_f 0.53 (A)), изомера (IIIa) 23.0% (R_f 0.45 (A)).

***N*²-Бензоил-2',5'-ди-*O*-трет-бутилдиметилсиллилгуанозин (IIб) и *N*²-бензоил-3',5'-ди-*O*-трет-бутилдиметилсиллилгуанозин (IIIб)** получали из нуклеозида (Iб). Смесь изомеров после хроматографической очистки на силикагеле растворяли в хлороформе и постепенным добавлением гексана осаждали изомер (IIб). Маточник упаривали и перекристаллизацией из метанола получали изомер (IIIб). Такую процедуру повторяли несколько раз и получали изомер (IIб), выход 41% (R_f 0.66 (A), т. пл. 115–116°C) и изомер (IIIб), выход 45.9% (R_f 0.60 (A), т. пл. 117–120°C). Нуклеозид (IIIб) растворяли в смеси пиридин–вода (9 : 1) и выдерживали 2 сут при 20°C. Образовавшуюся смесь изомеров повторно разделяли как указано выше. Общий выход составил 60.5% 2'-изомера (IIб) и 21.6% 3'-изомера (IIIб).

***N*⁴-Бензоил-2',5'-ди-*O*-трет-бутилдиметилсиллилцитидин (IIв) и *N*⁴-бензоил-3',5'-ди-*O*-трет-бутилдиметилсиллилцитидин (IIIв)** получали из нуклеозида (Iв). Смесь изомеров разделяли хроматографией на силикагеле в хлороформе. Выход изомера (IIв) 61.2% (R_f 0.48 (B)), изомера (IIIв) 23.7% (R_f 0.24 (B)).

5'-*O*-Ацетил-*N*⁴-бензоил-2'-*O*-трет-бутилдиметилсиллилцитидин (IIг) и 5'-*O*-ацетил-*N*⁴-бензоил-3'-*O*-трет-бутилдиметилсиллилцитидин (IIIг) получали из нуклеозида (Iг). Смесь изомеров разделяли колоночной хроматографией на силикагеле, постепенно повышая концентрацию метанола в хлороформе от 0 до 3%. Выход соединения (IIг) 64.9% (R_f 0.39 (B)); (IIIг) – 30.1% (R_f 0.22 (B)).

5'-*O*-Ацетил-2'-*O*-трет-бутилдиметилсиллилуридин (IIд) получали из нуклеозида (Iд). После хроматографической очистки на силикагеле полученную смесь изомеров (IIд) и (IIIд) растворяли в хлороформе и постепенным добавлением гексана осаждали 2'-изомер (IIд) до начала выпадения маслянистого аморфного осадка 3'-изомера. Выход нуклеозида (IIд) 69.2% (R_f 0.58 (A)). (Для изомера (IIIд) R_f 0.52 (A)). Маточник упари-

вали, растворяли в смеси пиридин–вода (9 : 1) и выдерживали 2 сут при 20°C. Далее смесь упаривали и повторяли разделение как указано выше. Общий выход соединения (IIд) 82.0%.

Метилтиометилирование 3'-гидроксильных групп рибонуклеозидов.

Метод 1. К раствору 1 ммоль защищенного нуклеозида (IIб)–(IIд)* в 10–30 мл (в зависимости от растворимости нуклеозида) абсолютного ацетонитрила добавляли при 0°C 0.75 мл (10 ммоль) диметилсульфида, а затем при перемешивании порциями в течение 15–30 мин 970 мг (4 ммоль) перекиси бензоила. Смесь перемешивали при 0°C 1–3 ч (контроль ТСХ). Далее смесь упаривали, добавляли 20 мл 10% водного раствора Na_2CO_3 и экстрагировали хлороформом (3 × 20 мл). Объединенные хлороформные экстракты сушили Na_2SO_4 , упаривали и очищали хроматографией на силикагеле, постепенно понижая концентрацию гексана в хлороформе от 50 до 0%, затем постепенно повышая концентрацию метанола в хлороформе от 0 до 2%. Необходимые фракции упаривали, растворяли в 10 мл 10% раствора триэтиламина в тетрагидрофуране и выдерживали 1–2 сут при 20°C. Далее смесь упаривали и повторно очищали хроматографией на силикагеле, постепенно повышая концентрацию метанола в хлороформе от 0 до 2%. Упариванием необходимых фракций получали продукты (Vб)–(Vд).

Метод 2. К 1 ммоль защищенного нуклеозида (IIa)–(IIд) добавляли смесь 2.15 мл уксусного ангидрида, 0.65 мл уксусной кислоты и 3.15 мл диметилсульфоксида. Смесь выдерживали 3 сут при 20°C (контроль ТСХ). По завершении реакции смесь выливали при перемешивании в 30 мл охлажденного 10% водного раствора Na_2CO_3 . По окончании выделения газа водный слой экстрагировали 3 × 20 мл хлороформа. Объединенные хлороформные экстракты сушили безводным Na_2SO_4 , упаривали в вакууме водоструйного, а затем масляного насосов. Полученный сухой остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле, постепенно повышая концентрацию метанола в хлороформе от 0 до 2%. Необходимые фракции упаривали и продукт перекристаллизовывали.

2',5'-Ди-*O*-трет-бутилдиметилсиллил-3'-*O*-метилтиометиладенозин (IV) и 9-(2,5-ди-*O*-трет-бутилдиметилсиллил-β-*D*-эритро-пентофуран-3-улозил)аденин (VIa). К суспензии 992 мг (2 ммоль) нуклеозида (IIa) в 60 мл ацетонитрила добавляли при 0°C 1.5 мл диметилсульфида и порциями 1.94 г перекиси бензоила в течение 30 мин. Через 15 мин реакционная смесь становилась прозрачной, а еще через 15 мин выпадал осадок.

* Методика метилтиометилирования соединения (IIa) отличается в деталях от данной и приведена ниже при описании синтеза продуктов (IV) и (VIa).

Спустя 3 ч после добавления перекиси бензоила осадок отделяли, перекристаллизовывали из ацетонитрила и получали 195 мг (19.8%) нуклеозида (VIa). R_f 0.56 (A). Раствор обрабатывали, как это указано в общей методике (включая обработку триэтиламином), и получали 707 мг (63.7%) нуклеозида (IV) (с учетом перекристаллизации из ацетонитрила), т. пл. 133.5–134°C. R_f 0.60 (A).

N⁶-Бензоил-2',5'-ди-О-трет-бутилдиметилсиллил-3'-О-метилтиометиладенозин (Va). К раствору 1.246 г (2.24 ммоль) нуклеозида (IV) в 15 мл абсолютного пиридина добавляли 0.78 мл (6.72 ммоль) бензоилхлорида. Смесь выдерживали 2 ч при 20°C, добавляли при охлаждении 3 мл воды и через 10 мин 4 мл насыщенного водного раствора аммиака. Через 20 мин смесь упаривали, добавляли 20 мл насыщенного водного раствора NaHCO₃ и экстрагировали 3 × 30 мл хлороформа. Объединенные хлороформные экстракты сушили Na₂SO₄, упаривали и продукт очищали хроматографией на силикагеле, элюент – хлороформ. Необходимые фракции упаривали и получали 1.45 г (98%) нуклеозида (Va).

Десилилирование метилтиометильных производных нуклеозидов. К раствору 1 ммоль нуклеозида (Va)–(Vd), (VIIIд) (получение последнего см. ниже) в 3 мл тетрагидрофурана добавляли 1.1 мл 1 М раствора тригидрата тетрабутиламмоний-фторида в тетрагидрофуране на каждую силильную группу. Смесь выдерживали 2 ч при 20°C, упаривали, продукт очищали хроматографией на силикагеле и после упаривания необходимых фракций продукт (VIIa)–(VIIв) перекристаллизовывали (метод А). Если образующееся соединение не удалось перекристаллизовать, смесь после десилилирования упаривали, остаток растворяли в водном метаноле и пропускали через слой дау-экса 50W в NH₄⁺-форме. Элюат упаривали и продукт (VIIг), (VIIIд) и (IXд) очищали колоночной хроматографией на силикагеле (метод Б). Таким образом были получены указанные ниже производные.

N⁶-Бензоил-3'-О-метилтиометиладенозин (VIIa): из 264 мг (0.4 ммоль) нуклеозида (Va) (метод А), выход 144 мг (83.4%), т. пл. 177–178°C (метанол).

N²-Бензоил-3'-О-метилтиометилгуанозин (VIIб): из 757 мг (1.12 ммоль) нуклеозида (Vб) (метод А), выход 413 мг (82.4%), т. пл. 167–168°C (водный метанол).

N⁴-Бензоил-3'-О-метилтиометилцитидин (VIIв): из 160 мг (0.252 ммоль) нуклеозида (Vв) (метод А), выход 83 мг (80.8%), т. пл. 163.5–164.5°C (метанол).

5'-О-Ацетил-N⁴-бензоил-3'-О-метилтиометилцитидин (VIIг): из 400 мг (0.71 ммоль) нуклеозида (Vг) (метод Б), выход 260 мг (81.5%).

5'-О-Ацетил-3'-О-метилтиометилуридин (VIIIд): из 205 мг (0.445 ммоль) нуклеозида (Vд) (метод Б), выход 136 мг (88.2%).

3'-О-Метилтиометилуридин (IXд). Данные приведены в табл. 2.

Удаление ацильных защитных групп. Раствор 1 ммоль нуклеозида (Vг), (Vд), (VIIa), (VIIб), (VIIг) в 5 мл полунасыщенного раствора аммиака в метаноле (метанол насыщали газообразным аммиаком при 0°C и разбавляли в 2 раза) выдерживали 1 сут (в случае нуклеозида (VIIб) – 2 сут) при 20°C, после чего смесь упаривали и продукт перекристаллизовывали (метод Б) либо очищали хроматографией на силикагеле, постепенно повышая концентрацию метанола в хлороформе от 5 до 10% (метод Г). Данные эксперимента по деацилированию соединений (VIIб), (VIIг), (VIIIд) приведены в табл. 2.

3'-О-Метилтиометил-2'-О-трет-бутилдиметилсиллилцитидин (VIIIг): из 200 мг (0.355 ммоль) нуклеозида (Vг) (метод Г), выход 133 мг (89.7%), т. пл. 217–218°C (хлороформ–гексан).

3'-О-Метилтиометил-2'-О-трет-бутилдиметилсиллилуридин (VIIIд): из 461 мг (1 ммоль) нуклеозида (Vд) (метод Г), выход 387 мг (92.4%), т. пл. 201–202°C (метанол).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Печенов А.Е., Завгородний С.Г., Швец В.И., Мирошников А.И. // Биоорганическая химия. 2000. Т. 26. С. 362–368.
2. Matteucci M. // Tetrahedron Lett. 1990. V. 31. P. 2385–2388.
3. Veeneman G.H., van der Marel G.A., van den Elst H., van Boom J.H. // Rec. Trav. Chim. Pays-Bas. 1990. V. 109. P. 449–451.
4. Veeneman G.H., van der Marel G.A., van den Elst H., van Boom J.H. // Tetrahedron. 1991. V. 47. P. 1547–1562.
5. Oivanen M., Viinamäki T., Zavgorodny S., Poliansky M., Azhayev A., van Aerschot A., Herdewijn P., Lönnberg H. // Coll. Czech. Chem. Comm. 1990. V. 55. P. 17–20.
6. Zavgorodny S., Poliansky M., Kriukov V., Oksman P., Hakala H., Lönnberg H., van Aerschot A., Herdewijn P., Azhayev A. // Nucl. Acids Res. 1991. V. 19. P. 295.
7. Zavgorodny S., Poliansky M., Besidsky E., Kriukov V., Sanin A., Pokrovskaya M., Gurskaya G., Lönnberg H., Azhayev A. // Tetrahedron Lett. 1991. V. 32. P. 7593–7596.
8. Hsu L.-Y., Wise D.S., Kucera L.S., Drach J.C., Townsend L.B. // J. Org. Chem. 1992. V. 57. P. 3354–3358.
9. Jones R.J., Lin K.-Y., Milligan J., Wadwani S., Matteucci M. // J. Org. Chem. 1993. V. 58. P. 2983–2991.
10. Lin K.-Y., Pudlo J.S., Jones R.J., Bishofberger N., Matteucci M.D., Froehler B.C. // BioMed. Chem. Lett. 1994. V. 4. P. 1061–1064.

11. Ducharme Y., Harrison K.A. // *Tetrahedron Lett.* 1995. V. 36. P. 6643–6646.
12. Karpeisky A., Gonzalez C., Burgin A.B., Usman N., Beigelman L. // *Nucleosides Nucleotides.* 1997. V. 16. P. 955–958.
13. He G.-X., Bischofberger N. // *Tetrahedron Lett.* 1997. V. 38. P. 945–948.
14. Hansske F., Madej D., Robins M.J. // *Tetrahedron.* 1984. V. 40. P. 125–135.
15. Gavagnin M., Sodano G. // *Nucleosides Nucleotides.* 1989. V. 8. P. 1319–1324.
16. Medina J.C., Salomon M., Kyler K.S. // *Tetrahedron Lett.* 1988. V. 29. P. 3773–3776.
17. Hakimelahi G.H., Proba Z.A., Ogilvie K.K. // *Can. J. Chem.* 1982. V. 60. P. 1106–1113.
18. Ogilvie K.K., Beaucage S.L., Schifman N.L., Theriault N.Y., Sadana K.L. // *Can. J. Chem.* 1978. V. 56. P. 2768–2780.
19. Van Boom J.H., Wreesmann C.T.J. // *Oligonucleotide Synthesis: A Practical Approach* // Ed. M.J. Gait. Oxford; Washington: IRL Press, 1984. P. 153–182.
20. Eckstein F., Cramer F. // *Chem. Ber.* 1965. B. 98. S. 995–997.
21. Griffin B.E., Jarman M., Reese C.B., Sulston J.E. // *Tetrahedron.* 1967. V. 23. P. 2301–2313.
22. Fromageot H.P.M., Jarman M., Reese C.B., Sulston J.E. // *Tetrahedron.* 1967. V. 23. P. 2315–2331.

The S,X-Acetals in Nucleoside Chemistry.

II. The Synthesis of 3'-O-Methylthiomethylribonucleosides

A. E. Pechenov*, S. G. Zavgorodny***, V. I. Shvets*, and A. I. Miroshnikov**

*Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 117571 Russia

**Shemyakin-Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences,
ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 119871 Russia

3'-O-Methylthiomethyl derivatives of ribonucleosides were synthesized from the selectively protected nucleosides by the action of a dimethyl sulfide–benzoyl peroxide mixture in acetonitrile or a dimethyl sulfoxide–acetic anhydride–acetic acid mixture.

Key words: ribonucleosides, methylthiomethylation, thioacetals, Pummerer's rearrangement

To whom correspondence should be addressed; phone +7 (095) 330-7247; e-mail: kou@ibch.siobc.ras.ru.

For the full text of English translation of this article, see *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2000, vol. 26, no. 6. It is also available (free) in PDF format through the Web Site <http://www.maik.rssi.ru/>.