



УДК 547.963.32.07

СИНТЕЗ 3'-С-МЕТИЛУРИДИНА И 3'-С-МЕТИЛЦИТИДИНА

Бейгельман Л. Н., Карнейский М. Я., Михайлов С. Н.

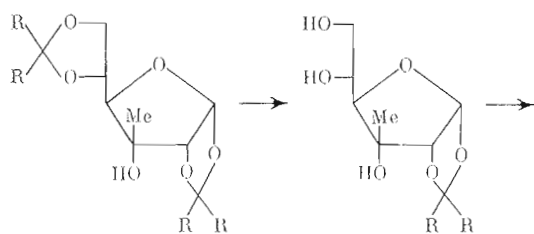
Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

Синтезированы аналоги нуклеозидов на основе 3-С-метил-*D*-рибофуранозы. Кислотный гидролиз 1,2:5,6-ди-*O*-изопропилиден(циклогексилиден)-3-С-метил- α -*D*-аллофуранозы приводил к 1,2-*O*-изопропилиден(циклогексилиден)-3-С-метил- α -*D*-аллофуранозе, окислением которой NaIO_4 с последующим восстановлением NaBH_4 и селективным бензоилированием синтезировали 5-*O*-бензоил-1,2-*O*-изопропилиден(циклогексилиден)-3-С-метил- α -*D*-рибофуранозу. Изучены различные методы превращения этого соединения в 1,2,3-три-*O*-ацетил-5-*O*-бензоил-3-С-метил-*D*-рибофуранозу, гликозилированием которой бистриметилсилильными производными урацила и цитозина в ацетонитриле в присутствии SnCl_4 с последующим удалением защитных групп получали 3'-С-метилуридин и 3'-С-метилцитидин. Изучение спектров КД и ПМР 3'-С-метилнуклеозидов позволило определить их конформацию в растворе.

Общепринятыми приемами создания аналогов нуклеозидов являются замена функциональных групп, например введение в углеводную часть молекулы меркапто-, аминогруппы вместо гидроксильных, замена природных гетероциклических оснований и др. Нам представляется перспективным осуществление другого принципа конструирования аналогов нуклеозидов, а именно синтез «полных» аналогов, сохраняющих все функциональные группы природных соединений, что необходимо для сохранения всех возможных точек связывания с ферментами, катализирующими реакции синтеза и распада нуклеиновых кислот. Такого рода аналоги должны удовлетворять следующим требованиям: все функциональные группы, их конфигурация, а также расстояния между ними должны быть оставлены без изменений. Желаемые соединения могут быть получены, если вместо атома водорода С—Н-группы рибозного остатка или гетероциклического основания нуклеозида ввести химически инертный заместитель, например алкильную группу.

Настоящая работа, продолжающая исследования по синтезу полных аналогов нуклеозидов, нуклеотидов и олигонуклеотидов [1—5], посвящена получению 3'-С-метилнуклеозидов. Общая схема синтеза 3'-С-алкилнуклеозидов [5, 6] распространена в настоящей работе на синтез 3'-С-метилпиримидиновых нуклеозидов (см. схему), содержащих три различные по своей реакционной способности гидроксильные группы: первичную, вторичную и третичную.

Исходными соединениями были выбраны 1,2:5,6-ди-*O*-изопропилиден(и циклогексилиден)-3-С-метил- α -*D*-аллофуранозы (I, II), синтезированные в три стадии по известным методам [6—8] из *D*-глюкозы. Селективное удаление 5,6-*O*-изопропилиденовой (циклогексилиденной) группы 75% уксусной кислотой приводило к соответствующим диоксоланам (III, IV)

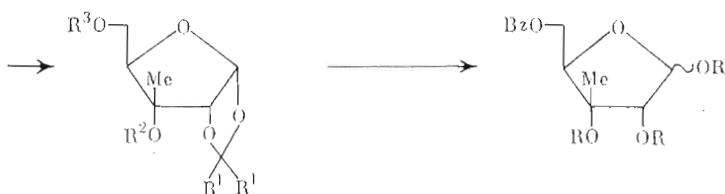


(I) R = Me

(III) R = Me

(II) R + R = $-(CH_2)_5-$

(IV) R + R = $-(CH_2)_5-$



(V) R¹ = Me, R² = R³ = H

(XI) R = H

(VI) R¹ + R¹ = $-(CH_2)_5-$, R² = R³ = H

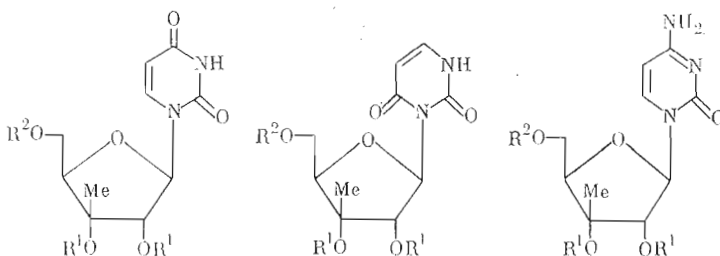
(XII) R = Ac

(VII) R¹ = Me, R² = H, R³ = Bz

(VIII) R¹ + R¹ = $-(CH_2)_5-$, R² = H, R³ = Bz

(IX) R¹ = Me, R² = Ac, R³ = Bz

(X) R¹ + R¹ = $-(CH_2)_5-$, R² = Ac, R³ = Bz



(XIII) R¹ = Ac, R² = Bz

(XIV) R¹ = Ac, R² = Bz

(XV) R¹ = Ac, R² = Bz

(XVI) R¹ = R² = H

(XVII) R¹ = R² = H

(XVIII) R¹ = R² = H

[7, 8]. Их периодатным окислением с последующим восстановлением $NaBH_4$ получали с высокими выходами 1,2-О-изопропилиден(циклогексалиден)-3-С-метил- α -D-рибофуранозы (V, VI).

Селективное бензоилирование производных (V) и (VI) небольшим избытком бензоилхлорида в пиридине давало 5-О-бензоаты (VII), (VIII). 5-О-Бензоил-1,2-О-изопропилиден-3-С-метил- α -D-рибофураноза (VII) была ранее синтезирована Валтоном с сотр. [9] в пять стадий, исходя из D-ксилозы, и далее в три стадии превращена в неочищенный 2,3,5-три-О-бензоил-3-С-метил-D-рибофуранозилбромид, использованный для синтеза по Хильберту — Джонсону 1-(2',3',5'-три-О-бензоил-3'-С-метил- β -D-рибофуранозил)-4'-О-метилгуацила и 3'-С-метилцитидина [10]. С появлением новых методов гликозилирования [11, 12] этот путь представляется нам нерациональным из-за большого числа стадий.

Для выбора оптимального метода синтеза углеводного компонента гликозилирования мы изучили возможные пути превращения соединений (VII) и (VIII) в полностью ацилированную 3-С-метил-D-рибофуранозу (XII). Ранее соединение (XII) было синтезировано ацетоллизом бензоата

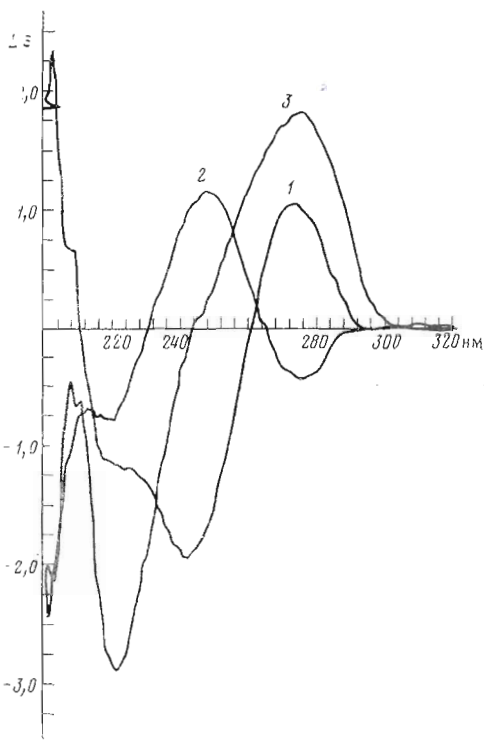
(VII) при 0°С с выходом 73% [13]. Однако воспроизведение этой методики нами привело к сложной смеси продуктов. Напротив, предварительное блокирование третичной гидроксильной группы ацетилированием в присутствии диметиламинопиридина [14] приводило с количественными выходами к ацетатам (IX) и (X), ацетоллиз которых дает производное (XII) с выходами 80 и 66% соответственно. Были изучены другие возможности синтеза этого соединения. Кислотный гидролиз ацетонида (VII) 90% трифторуксусной кислотой (20 мин при 20°С) приводил к бензоату (XI). Последний без выделения ацетилировали уксусным ангидридом в пиридине в присутствии диметиламинопиридина или по стадиям, сначала уксусным ангидридом в пиридине (в этих условиях третичная спиртовая группа не ацетилируется [5]), а затем уксусным ангидридом с *n*-толуолсульфокислотой [5]. Ацетат (XII) таким методом получали с выходами 66 и 85% соответственно.

Удаление 1,2-О-циклогексильденной группы из соединения (VIII) протекало существенно дольше, чем удаление изопропилиденной группы (90% трифторуксусная кислота, 20 ч при 20°С), однако и в этом случае после ацетилирования бензоата (XI) было получено соединение (XII) с хорошим выходом.

Гликозилирование бистриметилсилурацила ацетатом (XII) в присутствии SnCl₄ в ацетонитриле приводило с высоким выходом к защищенному нуклеозиду (XIII), а также к соответствующему *N*-3-изомеру (XIV). Аналогично синтезировали производное (XV). Деблокирование соединений (XIII—XV) раствором аммиака в метаноле давало нуклеозиды (XVI—XVIII) с выходами 70—80%. УФ-спектры полученных нуклеозидов (XVI) — (XVIII) идентичны соответствующим спектрам рибофуранозильных производных урацила и цитозина [15], что подтверждает место присоединения углеводного остатка. В спектрах КД положительный эффект Коттона в полосе B₂₁ (260—280 нм) характерен для β-нуклеозидов [16, 17] (см. рисунок). В ЯМР-спектре большая константа взаимодействия J_{1',2'} 7,5—8,0 Гц характерна для 3'-С-алкилнуклеозидов с β-конфигурацией [5, 9, 10].

Очевидный интерес представляет сравнение конформации в растворе природных рибонуклеозидов и синтезированных 3'-С-метилнуклеозидов. Основой сравнения служат параметры ЯМР- и КД-спектров, анализ которых позволяет определить соотношения конформеров в динамическом равновесии.

В таблице приведены константы спин-спинного взаимодействия, взятые из обзора Дэвиса [18], для уридина, цитидина, усредненные константы *анти*- и *син*-пиримидиновых нуклеозидов, а также аналогичные величины для соединений (XVI), (XVIII).



Экспериментальные спектры КД в воде при 20°С: 1 — 3'-С-метилуридин (XVI); 2 — 3-(3'-С-метил-β-D-рибофуранозил)урацил (XVII); 3 — 3'-С-метилцитидин (XVIII)

Константы спин-спинового взаимодействия (Гц) и рассчитанные конформации пиридиновых нуклеозидов

Нуклеозиды	$J_{1', 2'}$	$J_{4', 5'a}$	$J_{4', 5'b}$	$J_{4', 5'a} + J_{4', 5'b}$	S_{X^*}	P_+^{**}	P_a	P_-
Уридин [18]	4,8	2,9	4,4	7,3	0,53	0,63	0,25	0,12
Цитидин [18]	4,0	2,8	4,3	7,1	0,44	0,64	0,25	0,11
Пиридиннуклеозид в <i>анти</i> -конформации ***	4,0	2,9	4,4	7,3	0,44	0,63	0,25	0,12
Пиридиннуклеозид в <i>син</i> -конформации ***	4,0	3,5	6,0	9,5	0,44	0,45	0,39	0,16
3'-С-Метилуридин	7,8	3,8	4,9	8,7	0,87	0,53	0,26	0,21
3'-С-Метилцитидин	7,5	3,6	4,9	8,5	0,83	0,54	0,27	0,19

* S_{X^*} — мольная доля *S*-конформера, определяемая из соотношения $J_{1', 2'} = 9,0 \cdot S_{X^*} + N_X [18]$.

** P_+ , P_a , P_- — мольные доли соответственно *гош-гош*-, *гош-транс*- и *транс-гош*-ротамеров, рассчитанные из следующих уравнений [18]: $J_{4', 5'a} = 1,3P_+ + 2,7P_a + 11,7P_-$; $J_{4', 5'b} = 1,3P_+ + 11,5P_a + 5,8P_-$, $1 = P_+ + P_a + P_-$.

*** Усредненные данные для пиридиновых нуклеозидов, находящиеся преимущественно в *анти*- и *син*-конформациях [18].

Анализ конформации рибозного остатка соединений (XVI), (XVIII) проведен на основании общепринятой в настоящее время концепции псевдодвращения. Следует полагать, что введение в 3'-положение рибозного остатка метильной группы существенно не скажется на точности расчета величин *S*- и *N*-конформеров в рамках этой концепции [18].

Согласно таблице, величины $J_{1', 2'}$, характеризующие $S \rightleftharpoons N$ -равновесие, в 3'-С-метилнуклеозидах существенно больше, чем в природных уридине и цитидине, что свидетельствует о возрастании доли *S*-популяции. В то же время, как видно из сравнения констант $J_{4', 5'a}$ и $J_{4', 5'b}$, введение метильной группы не вызывает значительного изменения конформации экзотической 5'-CH₂OH-группы. Средние значения констант $J_{4', 5'a}$ и $J_{4', 5'b}$ для находящихся преимущественно в *син*-конформации пиридиновых нуклеозидов превышают соответствующие значения на 0,6 и 1,6 Гц для нуклеозидов, имеющих *анти*-конформацию. Это отражает уменьшение популяции *гош-гош*-конформера. В случае 3'-С-метилнуклеозидов сумма констант $J_{4', 5'a}$ и $J_{4', 5'b}$ 8,5—8,7 Гц является промежуточной между суммами соответствующих констант для нуклеозидов, находящихся преимущественно в *анти*- и *син*-конформациях (7,3 и 9,5 Гц). Следовательно, и эти данные указывают на то, что в 3'-С-метилнуклеозидах возрастает доля *син*-популяции по сравнению с природными нуклеозидами.

Ранее было показано, что в спектрах КД коротковолновый переход (E_{11a}) пиридиновых нуклеозидов в области 220 нм малочувствителен к изменению *син* \rightleftharpoons *анти*-равновесия относительно гликозидной связи, в то же время этот переход достаточно чувствителен к изменению хирального поля углеводного остатка [17]. Наблюдаемые близкие значения эффектов Коттона в этой полосе для модифицированных нуклеозидов (XVI) — (XVIII) (см. рисунок) и соответствующих β -D-рибофуранозильных нуклеозидов [17, 19, 20] свидетельствуют о незначительном изменении хирального окружения хромофора.

В спектрах КД 3'-С-метилуридина (XVI) и ранее синтезированных 3'-С-этилуридина и 3'-С-н-бутилуридина [5] наблюдаемый эффект Коттона в V_{21} -полосе (260—280 нм) практически одинаков, тогда как амплитуда в V_{11} -полосе (240 нм) уменьшается по абсолютному значению при увеличении алкильного заместителя ($-2,0\Delta\epsilon \rightarrow -1,0 \rightarrow -0,7$ соответственно).

Экспериментально наблюдаемое уменьшение дихроичности в V_{21} -полосе при переходе от природных нуклеозидов к их 3'-С-замещенным производным можно объяснить двумя причинами: 1) изменением *син* \rightleftharpoons *анти*-

равновесия в сторону *син*-конформации, так как переход от *анти*-конформации к чистой *син*-конформации может привести к отрицательному эффекту Коттона в полосе ν_{21} [17]; 2) сдвигом $S \rightleftharpoons N$ -равновесия в сторону S -популяции, который, по расчетам Майлса с сотр. [17], должен приводить к уменьшению амплитуды ν_{21} -полосы. Максимальное изменение интенсивности при переходе от N - к S -конформации в *анти*-конформации молекулы в случае цитидина не превышает 2,5 раз, а в случае уридина — 1,6 раз. По данным спектров ПМР, доля S -конформера в соединении (XVI) составляет 87%, в соединении (XVIII) — 83%, а в природных уридине и цитидине — 53 и 44% соответственно. В нашем случае наблюдается двукратное уменьшение амплитуды эффекта Коттона при переходе от цитидина к его 3'-С-метильному производному (XVIII), в уридиновых нуклеозидах она уменьшается в 2,7 раза, что нельзя объяснить только изменением $S \rightleftharpoons N$ -равновесия. Это уменьшение эффекта Коттона можно интерпретировать как сдвиг *син* \rightleftharpoons *анти*-равновесия в сторону *син*-конформера при переходе от природных нуклеозидов к их 3'-С-метильным аналогам, что согласуется с выше сделанным заключением при изучении спектров ПМР.

Суммируя все физико-химические данные по изучению конформации 3'-С-метилнуклеозидов в растворе, можно сделать вывод: введение метильной группы в 3'-положение природных нуклеозидов вызывает изменение конформационного равновесия в молекуле — увеличение долей S - и *син*-конформеров при незначительном уменьшении вклада *гош-гош*-ротамера.

Экспериментальная часть

Спектры ПМР регистрировали на спектрометре «Varian XL-100» (США) с рабочей частотой 100 МГц; химические сдвиги приведены в миллионных долях относительно внутреннего стандарта гексаметилдисилоксана (для CDCl_3) и *трет*-бутанола (для D_2O). Величины констант спин-спинового взаимодействия измерены в герцах. УФ-спектры снимали на приборе «Spectro-UV VIS» (ГДР). Удельное вращение измеряли на автоматическом поляриметре «Perkin-Elmer 141» (ФРГ). Температуры плавления определены на приборе ТП (СССР) и не исправлены. Препаративную хроматографию проводили на силикагеле Л 40—100 (ЧССР). Хроматографию в тонком слое осуществляли на пластинках «Silufol UV₂₅₄» (ЧССР) в системах растворителей: CHCl_3 (А); CHCl_3 — EtOH , 97,5 : 2,5 (Б); CHCl_3 — EtOH , 95 : 5 (В); CHCl_3 — EtOH , 9 : 1 (Г). Пятна обнаружили на хроматограммах нагреванием до 150—200° С или в УФ-свете.

1,2-О-Изопропилиден-3-С-метил- α -D-аллофураноза (III). Раствор 12,6 г (46 ммоль) соединения (I) в 100 мл 75% AcOH составляли на 24 ч при 20° С, упаривали досуха, упаривали с *n*-бутанолом (3×50 мл) и остаток перекристаллизовывали из спирта. Выход 9,6 г (89%). Т. пл. 133—134° С. $[\alpha]_D^{20}$: +23° (с 1; CHCl_3); +40,1° (с 1; MeOH). Спектр ПМР в CDCl_3 , δ : 5,71д (1H, $J_{1,2}$ 4,0; 1-H); 4,16д (1H, $J_{2,1}$ 4,0; 2-H); 3,85—3,55м (4H, 4-H, 5-H, 6-H, 6'-H); 1,60с (3H, Me); 1,37с (3H, Me); 1,35с (3H, 3-C-Me). Лит. данные [7]: т. пл. 132,5—133,5° С (CHCl_3 — петр. эфир); $[\alpha]_D^{20}$ +23° (с 0,4; CHCl_3).

3-С-Метил-1,2-О-циклогексиден- α -D-аллофураноза (IV). Раствор 7,5 г (21,2 ммоль) соединения (II) в 70 мл 75% AcOH нагревали 1 ч при 80° С, упаривали в вакууме досуха, упаривали с *n*-бутанолом (3×30 мл) и остаток перекристаллизовывали из смеси эфир — гексан. Выход 4,9 г (85%). Т. пл. 64—65° С. $[\alpha]_D^{20}$: +27,5° (с 1; CHCl_3); +44° (с 1; MeOH). Спектр ПМР в CDCl_3 , δ : 5,72д (1H, $J_{1,2}$ 4,0; 1-H); 4,15д (1H, $J_{2,1}$ 4,0; 2-H); 3,85—3,55м (4H, 4-H, 5-H, 6-H, 6'-H); 1,85—1,35м (10H, циклогексиден); 1,33с (3H, 3'-С-Me). Лит. данные [8]: т. пл. 63—64° С (эфир), $[\alpha]_D^{20}$ +29° (с 1; CHCl_3).

1,2-О-Изопропилиден-3-С-метил- α -D-рибофураноза (V). К раствору

9,0 г (38,4 ммоль) соединения (III) в 70 мл воды при перемешивании порциями добавляли 8,3 (38,8 ммоль) NaIO_4 , смесь выдерживали 1 ч при 20°C . Прибавляли 300 мл спирта, осадок отфильтровывали, промывали 30 мл спирта, к объединенным фильтратам порциями добавляли 3 г (80 ммоль) NaNH_2 и смесь оставляли на 16 ч при 20°C . Нейтрализовали AcOH до рН 7, добавляли 100 мл воды, экстрагировали хлороформом (2×300 мл), объединенные хлороформные экстракты упаривали досуха, упаривали с метанолом (5×20 мл), остаток растворяли в минимальном объеме хлороформа, добавляли гексан до помутнения и оставляли при 0°C на 16 ч. Отфильтровывали 7,0 г (89%) соединения (V). Т. пл. $70-72^\circ\text{C}$. $[\alpha]_D^{20} +40^\circ$ (с 1; MeOH). Найдено, %: С 53,11; Н 7,96. $\text{C}_8\text{H}_{16}\text{O}_5$. Вычислено, %: С 52,91; Н 7,89. Спектр ПМР в CDCl_3 , δ : 5,89д (1Н, $J_{1,2}$ 4,0; 1-Н); 4,15д (1Н, $J_{2,1}$ 4,0; 2-Н); 4,04—3,68м (3Н, 4-Н, 5-Н, 5'-Н); 1,62с (3Н, Me); 1,38с (3Н, Me); 1,20с (3Н, 3-С-Me).

3-С-Метил-1,2-О-циклогексалиден- α -D-рибофуранозу (VI) получали аналогично соединению (V). Выход 85%. Т. пл. $139-140^\circ\text{C}$ (эфир — гексан). $[\alpha]_D^{20} +44^\circ$ (с 1; MeOH). Спектр ПМР в CDCl_3 , δ : 5,83д (1Н, $J_{1,2}$ 4,0; 1-Н); 4,15д (1Н, $J_{1,2}$ 4,0; 2-Н); 4,00—3,65м (3Н, 4-Н, 5-Н, 5'-Н); 1,88—1,36м (10Н, циклогексалиден); 1,20с (3Н, 3-С-Me). Лит. данные [8]: т. пл. $143-143,5^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{20} +52^\circ$ (с 1; MeOH).

5-О-Бензоил-1,2-О-изопропилиден-3-С-метил- α -D-рибофураноза (VII). Раствор 6 г (29,5 ммоль) соединения (V) в 50 мл абс. пиридина упаривали досуха, остаток растворяли в 60 мл абс. пиридина, при охлаждении до 0°C прибавляли 3,7 мл (32 ммоль) бензоилхлорида и оставляли смесь на 16 ч при 0°C . Добавляли 30 мл насыщенного раствора NaHCO_3 и экстрагировали хлороформом (2×100 мл). Объединенные экстракты последовательно промывали насыщенным раствором NaHCO_3 (50 мл), водой (2×50 мл), сушили Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали досуха, упаривали с толуолом (3×30 мл), остаток растворяли в минимальном объеме хлороформа, добавляли гексан до помутнения и оставляли кристаллизоваться при 0°C . Выход 7,7 г (85%). Т. пл. $109-110^\circ\text{C}$. $[\alpha]_D^{20} +13,5^\circ$ (с 1; CHCl_3). R_f 0,65 (A). Спектр ПМР в CDCl_3 , δ : 8,10—7,30м (5Н, Bz); 5,77д (1Н, $J_{1,2}$ 4,0; 1-Н); 4,6—4,0м (3Н, 4-Н, 5-Н, 5'-Н); 4,11д (1Н, $J_{2,1}$ 4,0; 2-Н); 2,70с (1Н, OH, обменивается при добавлении D_2O); 1,57с (3Н, Me); 1,34с (3Н, Me); 1,23с (3Н, 3-С-Me). Лит. данные [9]: т. пл. $109-111^\circ\text{C}$ (эфир — петр. эфир), $[\alpha]_D^{20} +12,6^\circ$ (с 2,4; CHCl_3).

5-О-Бензоил-3-С-метил-1,2-О-циклогексалиден- α -D-рибофуранозу (VIII) получали как описано для соединения (VII). Выход 74%. Т. пл. $104-105^\circ\text{C}$ (CHCl_3 — гексан). $[\alpha]_D^{20} +16^\circ$ (с 1; CHCl_3). R_f 0,74 (A). Найдено, %: С 65,63; Н 7,09. $\text{C}_{19}\text{H}_{24}\text{O}_6$. Вычислено, %: С 65,50; Н 6,94. Спектр ПМР в CDCl_3 , δ : 8,10—7,30м (5Н, Bz); 5,81д (1Н, $J_{1,2}$ 4,0; 1-Н); 4,60—4,00м (3Н, 4-Н, 5-Н, 5'-Н); 4,11д (1Н, $J_{2,1}$ 4,0; 2-Н); 2,76с (1Н, OH, обменивается при добавлении D_2O); 1,85—1,20м (10Н; циклогексалиден); 1,20с (3Н, 3-С-Me).

3-О-Ацетил-5-О-бензоил-1,2-О-изопропилиден-3-С-метил- α -D-рибофураноза (IX). К раствору 1,23 г (4 ммоль) соединения (VII) в 10 мл сухого пиридина добавляли 4 мл уксусного ангидрида и 10 мг диметиламинопиридина и смесь оставляли на 16 ч при 20°C . Добавляли 20 мл холодной воды и экстрагировали хлороформом (2×50 мл). Объединенные хлороформные экстракты последовательно промывали насыщ. NaHCO_3 (2×30 мл), водой (50 мл), сушили Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали досуха и остаток упаривали с толуолом (3×10 мл). Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем (100 г) в системе А. Фракции, содержащие продукт, упаривали и получали 1,4 г сиропа. Выход количественный. R_f 0,69 (A). Спектр ПМР в CDCl_3 , δ : 8,11—7,30м (5Н, Bz); 5,78д (1Н, $J_{1,2}$ 4,0; 1-Н); 4,80д (1Н, $J_{2,1}$ 4,0; 2-Н); 4,59—4,31м (3Н, 4-Н, 5-Н, 5'-Н); 2,02с (3Н, Ac); 1,53с (3Н, Me); 1,45с (3Н, 3-С-Me); 1,32с (3Н, Me).

3-О-Ацетил-5-О-бензоил-3-С-метил-1,2-О-циклогексалиден- α -D-рибофуранозу (X) получали аналогично предыдущему. Выход 97%. R_f 0,81 (A). Спектр ПМР в $CDCl_3$, δ : 8,16—7,41м (5H, Bz); 5,82д (1H, $J_{1,2}$ 4,0; 1-H); 4,82д (1H, $J_{2,1}$ 4,0; 2-H); 4,62—4,34м (3H, 4-H, 5-H, 5'-H); 2,02с (3H, Ac); 1,80—1,36м (10H, циклогексалиден); 1,45с (3H, 3-C-Me).

1,2,3-Три-О-ацетил-5-О-бензоил-3-С-метил- α,β -D-рибофураноза (XII). Метод А. К раствору 1 г (2,86 ммоль) соединения (IX) в смеси 12,5 мл уксусной кислоты и 1,9 мл уксусного ангидрида прибавляли 0,63 мл конц. H_2SO_4 и оставляли на 4 сут при 20°С. Реакционную массу разбавляли 50 мл хлороформа, промывали последовательно насыщ. $NaHCO_3$ (2×10 мл), водой (30 мл), сушили Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали досуха, остаток хроматографировали на силикагеле (100 г) в системе А. Фракции, содержащие продукт, упаривали досуха и получали 0,9 г масла. Выход 80%. R_f 0,49 (A). Спектр ПМР в $CDCl_3$, δ : 8,15—7,40м (5H, Bz); 6,43д (1/3H, $J_{1,2}$ 4,5, α -1-H); 6,10д (2/3H, $J_{1,2}$ 1,5, β -1-H); 5,46д (2/3H, $J_{2,1}$ 4,5, β -2-H); 5,41д (1/3H, $J_{2,1}$ 4,5, α -2-H); 4,80—4,33м (3H, 4-H, 5-H, 5'-H); 2,10с (1H, α -Ac); 2,09с (2H, β -Ac); 2,06с (1H, α -Ac); 2,03с (5H, α -Ac, 2 β -Ac); 1,70с (2H, β -3-C-Me); 1,63с (1H, α -3-C-Me). Соотношение α : β 1 : 2.

Метод Б. Для ацетоллиза по методу А использовали соединение (X). Выход 66%.

Метод В. Раствор 1,85 г (6 ммоль) соединения (VII) в 15 мл 90% CF_3COOH выдерживали 20 мин при 20°С (по данным ТСХ, в системе В за это время происходило количественное превращение: R_f 1,0→0,33), к раствору прибавляли 25 мл толуола, упаривали досуха, остаток упаривали с толуолом (2×20 мл), получали 5-О-бензоил-3-С-метил- α,β -D-рибофуранозу (XI) в виде масла. Выход количественный. Спектр ПМР в смеси D_2O — $DMSO-d_6$, δ : 8,10—7,40м (5H, Bz); 5,32д (1/2H, $J_{1,2}$ 4,5; 1-H); 5,21д (1/2H, $J_{1,2}$ 4,5; 1-H); 4,46—4,10м (3H, 4-H, 5-H, 5'-H); 3,82д (1/2H, $J_{2,1}$ 4,5; 2-H); 3,70д (1/2H, $J_{2,1}$ 4,5; 2-H); 1,30с (3/2H, 3-C-Me); 1,27с (3/2H, 3-C-Me). Соотношение α : β 1 : 1.

Полученное соединение ацетилировали двумя способами.

I. Остаток растворяли в 10 мл абс. пиридина, упаривали досуха, к остатку добавляли 15 мл пиридина и 12 мл уксусного ангидрида и оставляли на 16 ч при 20°С. К смеси прибавляли 30 мл холодной воды, перемешивали 30 мин, экстрагировали хлороформом (2×50 мл), хлороформные экстракты промывали последовательно водой (2×30 мл), насыщ. $NaHCO_3$ (50 мл), водой (30 мл), сушили Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали досуха, упаривали с толуолом (3×20 мл) и остаток сушили в вакууме (1 мм рт. ст.) 1 ч при 30°С. К полученному маслу добавляли 15 мл уксусного ангидрида и 0,57 г (3 ммоль) моногидрата *n*-толуолсульфокислоты и смесь оставляли на 3 сут при 20°С. К раствору прибавляли 100 мл хлороформа, органический слой последовательно промывали насыщ. $NaHCO_3$ (2×50 мл), водой (50 мл), сушили Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали досуха, остаток упаривали с толуолом (2×20 мл) и хроматографировали на силикагеле (200 г) в системе А. Фракции, содержащие продукт, упаривали досуха и получали 2,0 г масла. Выход 85%.

II. Остаток растворяли в 10 мл абс. пиридина, упаривали досуха, к остатку добавляли 12 мл абс. пиридина, 9,5 мл уксусного ангидрида и 20 мг диметиламинопиридина и смесь оставляли на 3 сут при 20°С. К реакционной смеси прибавляли 100 мл хлороформа, органический слой последовательно промывали водой (50 мл), насыщ. $NaHCO_3$ (2×30 мл), водой (50 мл), сушили Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали досуха, остаток упаривали с толуолом (2×30 мл) и выделяли на силикагеле как в методе В1. Выход 66%.

Метод Г. Раствор 0,17 г (5 ммоль) соединения (VIII) в 1 мл 90% CF_3COOH оставляли на 20 ч при 20°С. Далее ацетилировали как в методе В2. Выход 60%.

1-(2',3'-Ди-О-ацетил-5'-О-бензоил-3'-С-метил- β -D-рибофуранозил)ура -

цил (XIII) и 3-(2',3'-ди-О-ацетил-5'-О-бензоил-3'-С-метил-β-D-рибофуранозил)урацил (XIV). Суспензию 1,12 г (10 ммоль) сухого урацила в 10 мл гексаметилдисилазана и 0,3 мл триметилхлорсилана кипятили с обратным холодильником без доступа влаги воздуха до полного растворения (~4 ч), упаривали досуха, к остатку добавляли раствор 2,6 г (6,6 ммоль) соединения (XII) в 60 мл сухого ацетонитрила и 0,84 мл (7 ммоль) SnCl₄ и оставляли на 16 ч при 20°С. Прибавляли 100 мл хлороформа и 40 мл насыщ. NaHCO₃, перемешивали 30 мин при 20°С, фильтровали через Nyflo Super Cel, органический слой отделяли, последовательно промывали насыщ. NaHCO₃ (30 мл), водой (2×30 мл) сушили Na₂SO₄, фильтровали, упаривали досуха. Остаток хроматографировали на силикагеле (100 г) в системе Б. Фракции, содержащие продукт, упаривали досуха и получали 2,35 г аморфного вещества. Выход 80%. R_f 0,35 (В). Спектр ПМР в CDCl₃, δ: 8,67уш.с (1H, NH, обменивается при добавлении D₂O); 8,10–7,40м (5H, Vz); 7,41д (1H, J_{6,5} 8,0; 6-H); 6,20д (1H, J_{1',2'} 7,5; 1'-H); 5,46дд (1H, J_{5,6} 8,0 и J_{NH,5} 2,0; 5-H, превращается при добавлении D₂O в дублет с J_{5,6} 8,0); 5,39д (1H, J_{2',1'} 7,5; 2'-H); 4,90–4,40м (3H, 4'-H, 5'-H, 5''-H); 2,14с (6H, 2Ac); 1,70с (3H, 3'-C-Me).

Вторым продуктом, элюированным системой Б, было соединение (XIV). Выход 0,21 г (7%), сироп. R_f 0,29 (В). Спектр ПМР в CDCl₃, δ: 9,42 уш.с (1H, NH); 8,14–7,15м (5H, Vz); 7,45д (1H, J_{6,5} 8,0; 6-H); 6,38д (1H, J_{1',2'} 6,5; 1'-H); 6,09д (1H, J_{2',1'} 6,5; 2'-H); 5,72д (1H, J_{5,6} 8,0; 5-H); 4,73–4,50м (3H, 4'-H, 5'-H, 5''-H), 2,12с (3H, Ac); 2,08с (3H, Ac); 1,80с (3H, 3'-C-Me).

1-(2',3'-Ди-О-ацетил-5'-О-бензоил-3'-С-метил-β-D-рибофуранозил)цитозин (XV). Суспензию 333 мг (3 ммоль) сухого цитозина в 3 мл гексаметилдисилазана и 0,2 мл триметилхлорсилана кипятили с обратным холодильником без доступа влаги воздуха до полного растворения (~2 ч), упаривали досуха и к остатку прибавляли 0,8 г (2 ммоль) соединения (XII) в 20 мл ацетонитрила. К раствору добавляли 0,3 мл (2,5 ммоль) SnCl₄ и оставляли гомогенную смесь на 16 ч при 20°С. Добавляли 50 мл хлороформа и 20 мл насыщ. NaHCO₃ и перемешивали 20 мин при 20°С. Смесь фильтровали через Nyflo Super Cel, органический слой отделяли, промывали последовательно насыщ. NaHCO₃ (20 мл), водой (20 мл), сушили Na₂SO₄, фильтровали и упаривали досуха. Остаток хроматографировали на силикагеле (50 г) в системе В. Фракции, содержащие продукт, упаривали досуха и получали 0,6 г аморфного вещества. Выход 68%. R_f 0,42 (Г). Спектр ПМР в CDCl₃, δ: 8,14–7,44м (5H, Vz); 7,50д (1H, J_{6,5} 7,5; 6-H); 6,35 (1H, J_{1',2'} 7,5; 1'-H); 5,55д (1H, J_{5,6} 7,5; 5-H); 5,38д (1H, J_{2',1'} 7,5; 2'-H); 4,90–4,53м (3H, 4'-H, 5'-а-H, 5'-б-H); 2,15с (6H, 2Ac); 1,70с (3H, 3'-C-Me).

1-(3'-С-метил-β-D-рибофуранозил)урацил (XVI). Раствор 1 г (2,24 ммоль) соединения (XIII) в 15 мл метанола, полунасыщенного при 0°С аммиаком, оставляли на 16 ч при 20°С, упаривали досуха и остаток перекристаллизовывали из смеси спирт – вода – эфир. Выход 0,43 г (75%). Т. пл. 197–198°С. Найдено, %: С 46,67; Н 5,62; N 10,71. C₁₀H₁₄N₂O₆. Вычислено, %: С 46,51; Н 5,46; N 10,85. Спектр ПМР в D₂O, δ: 7,90д (1H, J_{6,5} 8,0; 6-H); 5,96д (1H, J_{1',2'} 7,8; 1'-H); 5,90д (1H, J_{5,6} 8,0; 5-H); 4,18д (1H, J_{2',1'} 7,8; 2'-H); 4,09дд (1H, J_{4',5'а} 3,8, J_{4',5'б} 4,9; 4'-H); 3,79м (2H, 5'-а-H, 5'-б-H); 1,40с (3H, 3'-C-Me). УФ-спектр, нм (ε): λ^{РН 1-7}_{макс} 262(10 500), λ^{РН 13}_{макс} 262(7700).

Приведенным выше методом получены 3-(3'-С-метил-β-D-рибофуранозил)урацил (XVII) и 1-(3'-С-метил-β-D-рибофуранозил)цитозин (XVIII). Для соединения (XVII) выход 72%. Т. пл. 220–223°С. УФ-спектр, нм (ε): λ^{РН 1-7}_{макс} 264(8300), λ^{РН 13}_{макс} 292(11 400). Для соединения (XVIII) выход

78%. Т. пл. 222–225°С. Спектр ПМР: в D₂O, δ: 7,82д (1H, J_{6,5} 7,5; 6-H); 6,04д (1H, J_{5,6} 7,5; 5-H); 5,94д (1H, J_{1',2'} 7,5; 1'-H); 4,16д (1H, J_{2',1'} 7,5; 2'-H); 4,10дд (1H, J_{4',5'a} 3,6, J_{4',5'b} 4,9; 4'-H); 3,78м (2H, 5'a-H, 5'b-H); 1,38с (3H, 3'-C-Me). УФ-спектр, нм (ε): λ_{макс}^{РН¹} 280 (12 700), λ_{макс}^{РН⁷⁻¹³} 271 (8800). Лит. данные [10]: т. пл. 235–238°С (MeOH). Спектр ПМР в D₂O, δ: 5,89д (1H, J 7,5; 1'-H).

Авторы благодарят Г. И. Яковлева за съемку и интерпретацию спектров ПМР и постоянный интерес к настоящей работе.

ЛИТЕРАТУРА

1. Smrt J., Mikhailov S. N., Hynie S., Florentiev V. L. Free-conformational analogues of nucleotides and oligonucleotides derived from 9-[1,5-dihydroxy-4(S)-hydroxymethyl-3-oxapent-2(R)-yl]adenine.— Collect. Czech. Chem. Commun., 1975, v. 40, № 11, p. 3399–3403.
2. Крицын А. М., Михайлов С. Н., Мишарин А. Ю., Падюкова Н. Ш., Флорентьев В. Л. Негликозидные аналоги нуклеотидов. XI. Круговой дихроизм оксалильных производных нуклеиновых оснований.— Биоорганич. химия, 1976, т. 2, № 10, с. 1338–1350.
3. Михайлов С. Н. Конформационные аналоги нуклеотидов. IV. Синтез 2',3'-циклофосфата 1'(R)-β-оксиэтокси-1'-(урацил-1)-2'(R),3'-диоксипропана.— Биоорганич. химия, 1978, т. 4, № 5, с. 639–644.
4. Карпейский М. Я., Михайлов С. Н. Конформационные аналоги нуклеотидов. V. Синтез 5'-С-метилнуклеозидов на основе 6-дезокса-D-аллозы.— Биоорганич. химия, 1979, т. 5, № 6, с. 895–905.
5. Rosenthal A., Mikhailov S. N. Branched-chain sugar nucleosides. Synthesis of 3-C-ethyl (and 3-C-butyl) uridine.— Carbohydr. Res., 1980, v. 79, № 2, p. 235–242.
6. Rosenthal A., Mikhailov S. N. Branched-chain sugars. Modifications in the reaction of 1,2:5,6-di-O-isopropylidene-α-D-ribo-hexofuranos-3-ulose with Grignard and organolithium reagents.— J. Carbohydr., Nucleosides, Nucleotides, 1979, v. 6, № 3, p. 237–245.
7. Brimacombe J. S., Rollins A. J., Thompson S. W. Branched-chain sugars. Part I. An alternative synthesis of 6-deoxy-3-C-methyl-2,3,4-tri-O-methyl-D-allopyranose.— Carbohydr. Res., 1973, v. 31, № 1, p. 108–113.
8. Rees R. D., James K., Tatchell A. R., Williams R. H. 1,2:5,6-Di-O-cyclohexylidene-3-C-methyl-α-D-allofuranose and other branched-chain analogues.— J. Chem. Soc. (C), 1968, № 22, p. 2716–2721.
9. Nutt R. F., Dickinson M. J., Holly F. W., Walton E. Branched-chain sugar nucleosides. III. 3-C-Methyladenosine.— J. Org. Chem., 1968, v. 33, № 5, p. 1789–1795.
10. Walton E., Jenkins S. R., Nutt R. F., Holly F. W., Nemes M. Branched-chain sugar nucleosides. V. Synthesis and antiviral properties of several branched-chain sugar nucleosides.— J. Med. Chem., 1969, v. 12, № 12, p. 306–309.
11. Niedballa U., Vorbruggen H. A general synthesis of N-glycosides. I. Synthesis of pyrimidine nucleosides.— J. Org. Chem., 1974, v. 39, № 25, p. 3654–3660.
12. Vorbruggen H. Methods of nucleosides synthesis.— In: Nucleoside analogues. Chemistry, biology and medical applications. NATO Adv. Study Inst. New York — London: Plenum Press, 1979, v. 26, ser. A, p. 35–69.
13. Brink A. J., Coetzer J., Villiers de O. G., Hall R. H., Jordaan A., Kruger G. J. Synthesis of an analogue of the polyoxins. X-Ray structure of starting carbohydrate and accompanying acetolysis.— Tetrahedron, 1976, v. 32, № 8, p. 965–968.
14. Hofje G., Steglich W., Vorbruggen H. 4-Dialkylaminopyridines as highly active acylation catalysts.— Angew. Chem. Int. Ed. Engl., 1978, v. 17, № 8, p. 569–583.
15. Albert A. The ultraviolet spectra of pyrimidines and purines.— In: Synthetic procedures in nucleic acid chemistry, Wiley — Interscience, 1973, v. 2, p. 47–123.
16. Rogers G. T., Ulbricht T. L. V. Optical properties and conformation of pyrimidine nucleosides in solution.— Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1970, v. 39, № 3, p. 414–418.
17. Miles D. W., Inskip W. H., Robins M. J., Winkley M. W., Robins R. K., Eyring H. Circular dichroism of nucleoside derivatives. IX. Vicinal effects on the circular dichroism of pyrimidine nucleosides.— J. Amer. Chem. Soc., 1970, v. 92, № 13, p. 3872–3881.
18. Davies D. B. Conformations of nucleosides and nucleotides.— In: Progress in NMR spectroscopy. Pergamon Press, 1978, v. 12, p. 135–225.
19. Miles D. W., Robins M. J., Robins R. K., Winkley M. W., Eyring H. Circular dichroism of nucleoside derivatives. IV. Uracil derivatives.— J. Amer. Chem. Soc., 1969, v. 91, № 4, p. 824–831.

20. Miles D. W., Robins M. J., Robins R. K., Winkley M. W., Eyring H. Circular dichroism of nucleoside derivatives. V. Cytosine derivatives.—J. Amer. Chem. Soc., 1969, v. 91, № 4, p. 831–838.

Поступила в редакцию
17.IV.1981

После доработки
26.V.1981

SYNTHESIS OF 3'-C-METHYLURIDINE AND 3'-C-METHYLCYTIDINE

BEIGELMAN L. N., KARPEISKY M. Ya., MIKHAILOV S. N.

Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow

Syntheses of 3'-C-methyluridine and 3'-C-methylcytidine were described. Acid hydrolysis of 1,2:5,6-di-O-isopropylidene (cyclohexylidene)-3-C-methyl- α -D-allofuranose, followed by periodate cleavage of the 5,6-diol and subsequent reduction yielded 1,2-O-isopropylidene(cyclohexylidene)-3-C-methyl- α -D-ribofuranose. Selective benzylation of the latter afforded 5-O-benzoyl-1,2-O-isopropylidene(cyclohexylidene)-3-C-methyl- α -D-ribofuranose. Its hydrolysis followed by acetylation, or acetolysis of 3-O-acetyl-5-O-benzoyl-1,2-O-isopropylidene(cyclohexylidene)-3-C-methyl- α -D-ribofuranose yielded anomeric mixtures of branched-chain sugar triacetates. These were condensed with bis(trimethylsilyl)-uracil or-cytosine and the products deacylated with methanolic ammonia to afford in high yield the title nucleosides. CD and ^1H NMR studies of 3'-C-methylnucleosides allowed to determine their solution conformation.