



УДК 547.854.4'455.6'118.07

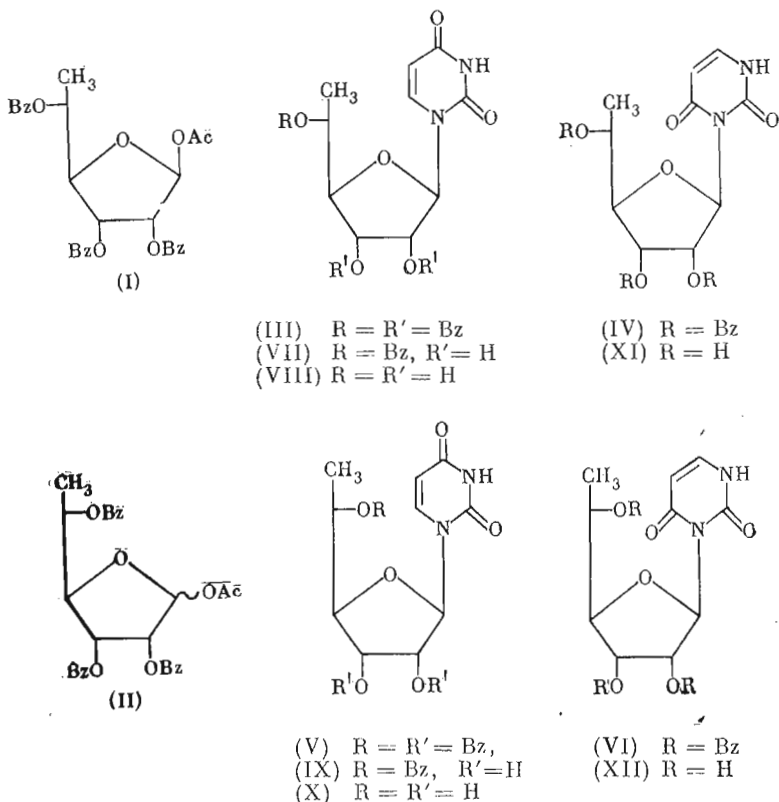
## СИНТЕЗ 5'-МОНО-, ДИ- И ТРИФОСФАТОВ 5'-С-МЕТИЛУРИДИНОВ\*

*Карнейский М. Я., Михайлов С. Н., Падюкова Н. Ш.*

*Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва*

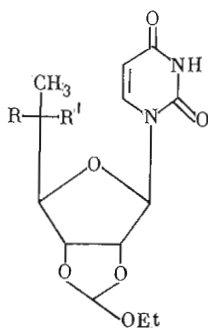
Гликозилированием бис(триметилсилил) урацила 1-О-ацетил-2,3,5-три-О-бензоил-6-дезоксид-β-D-аллофуранозой и 1-О-ацетил-2,3,5-три-О-бензоил-6-дезоксид-α, β-L-галофуранозой с последующим удалением бензоильных групп получены 5'-С-метилуридины (D-алло- и L-гало-ряда). Фосфорилированием 2',3'-О-этоксиметиленовых производных 5'-С-метилуридинов β-цианэтилфосфатом в присутствии N,N'-дихлорогексилкарбодимидом или 2,4,6-тринизопропиленбензолсульфохлаорида с последующим деблокированием синтезируются 5'-фосфаты 5'-С-метилуридинов, которые были превращены в соответствующие 5'-ди- и 5'-трифосфаты.

Для изучения механизма действия и специфичности ферментов метаболизма нуклеиновых кислот синтезированы 5'-моно-, ди- и трифосфаты 5'-С-метилуридинов (D-алло- и L-гало-ряда). Ранее нами были получены 5'-С-метилуридины (D-алло- и L-гало-ряда) [2, 3], 5'-С-метилцитидин и 5'-С-метиладенозин (D-алло-ряда) [2], а также динуклеозидфосфаты на основе 5'-С-метилуридинов [3]. Настоящая работа является продолжением этих исследований и посвящена синтезу 5'-фосфорных эфиров 5'-С-метилуридинов.

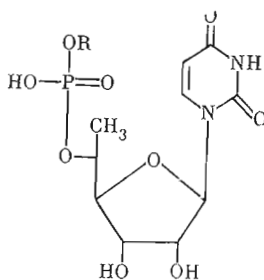


В предыдущей работе [3] гликозилирование бис(триметилсилил) урацила соединениями (I) и (II) [4] в смеси дихлорэтан — ацетонитрил

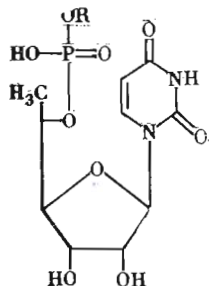
\* Предварительное сообщение см. [1].



(XIII) R = OH, R' = H  
 (XIV) R = H, R' = OH



(XV) R = H  
 (XVI) R = PO<sub>3</sub>H<sub>2</sub>  
 (XIX) R = P<sub>2</sub>O<sub>6</sub>H<sub>3</sub>



(XVI)  
 (XVII)  
 (XVIII)  
 (XX)

(1:4) в присутствии SnCl<sub>4</sub> по методу [5] приводило к полностью защищенным нуклеозидам (III) — (VI) и соответствующим 1,3-биспроизводным. Соотношение N1- и N3-изомеров составляло 4:1. Использование ацетонитрила в качестве растворителя в реакции гликозилирования позволило увеличить выходы N1-изомеров (III), (V) и свести к минимуму образование 1,3-биспроизводных. Обработка бензоата (III) аммиаком в метаноле давала 5'-O-бензоат (VII) и нуклеозид (VIII) с выходами 55 и 20% соответственно. Аналогичной обработкой соединения (V) синтезировали производные (IX) и (X) с выходами 39 и 31% соответственно. Время полугидролиза, определенное хроматографически, для соединений (VIII) и (IX) в этих условиях оказалось равным ~4 и 3 сут соответственно. Структура полученных соединений (VII) и (IX) доказана с помощью ПМР-спектроскопии: химические сдвиги C5'-протонов лежат в более слабом поле (5,39—5,22 м. д.) по сравнению с химическими сдвигами соответствующих протонов в нуклеозидах (VIII) и (X) (~4,0 м. д.). Бензоильные группы в нуклеозидах (III) — (VII) и (IX) легко удалялись действием метилата натрия в метаноле. Структура N3-производных (XI), (XII) подтверждена ПМР-спектрами и характерными сдвигами максимумов поглощения в УФ-спектрах при переходе от нейтральной к щелочной среде. Химические сдвиги C1'-протонов для N3-изомеров (XI), (XII) лежат в более слабом поле по сравнению с N1-изомерами (VIII), (X).

Фосфорилирование 2',3'-O-этоксиметил-5'-C-метилнуклеозидов (XIII) и (XIV) β-цианэтилфосфатом [6] в присутствии N,N'-дициклогексилкарбодимида или 2,4,6-триизопропилбензолсульфохлорида приводило после хроматографии на DEAE-целлюлозе и удаления защитных групп к 5'-фосфатам (XV) и (XVI) с хорошими выходами. Обработкой 5'-нуклеотидов (XV) и (XVI) N,N'-карбонилдиимидазолом с последующей конденсацией с три-*n*-бутиламмониевыми солями фосфорной или пиррофосфорной кислот [7] синтезировали 5'-дифосфаты (XVII) и (XVIII) и 5'-трифосфаты (XIX) и (XX). Структура фосфорных эфиров (XV) — (XX) подтверждена с помощью ЯМР-спектроскопии (см. таблицу).

На рисунке приведены КД-спектры нуклеозидов (VIII), (X) — (XII), 5'-фосфатов (XV), (XVI), а также спектры уридина и уридин-5'-фосфата. Спектры КД нуклеозидов и нуклеотидов на основе 6-дезоксисаллофуранозы как по форме, так и по амплитуде близки к спектрам соответствующих производных 6-дезокситалофуранозы. Это означает, что влияние асимметрического центра при C5'-атоме на КД-спектры невелико. Небольшое уменьшение положительного эффекта Коттона в полосе B<sub>2u</sub> (270 нм), характерного для N1-изомеров пиримидиновых нуклеозидов с β-конфигурацией [8], при переходе от природных уридина и уридин-5'-фосфата к соответствующим 5'-C-метилуридинам и их фосфорным эфирам может быть объяснено изменениями в *син* — *анти*- или *S* — *N*-равновесиях [9, 10]. Близкие величины Коттон-эффектов, а также химических сдвигов C1'-протонов и констант J<sub>1',2'</sub> для уридина и его 5'-фосфата и соответствующим

<sup>1</sup>H- и <sup>31</sup>P-ЯМР-спектры 5'-фосфорных производных  
5'-С-метилуридинов (XV)–(XX) в D<sub>2</sub>O при 37° С

δ, м. д.; в скобках J, Гц

Соединение	6-Н (J <sub>6,5</sub> )	5-Н	1'-Н (J <sub>1', 2'</sub> )	2'-, 3'-, 4'- и 5'-Н (J <sub>5', 6'</sub> )
(XV)	8,04 д (8,0)	5,98 д	5,99 д (3,8)	4,47–3,90 м (6,5)
(XVI)	8,14 д (8,0)	5,96 д	6,00 д (5,0)	4,46–4,08 м (6,5)
(XVII)	7,94 д (8,0)	6,01 д	6,01 д (6,0)	4,63–3,99 м (6,5)
(XVIII)	8,09 д (8,0)	6,01 д	6,03 д (4,0)	4,47–4,11 м (6,5)
(XIX)	7,93 д (8,0)	6,02 д	6,02 д (6,0)	4,50–3,98 м (6,5)
(XX)	8,10 д (8,0)	6,16 д	6,12 д (4,5)	4,51–4,13 м (6,5)

Соединение	CH <sub>3</sub>	P <sup>α</sup> (J <sub>Pα</sub> , 4'-Н, J <sub>Pα</sub> , 5'-Н)	P <sup>β</sup> (J <sub>Pα</sub> , P <sup>β</sup> )	P <sup>γ</sup> (J <sub>Pβ</sub> , P <sup>γ</sup> )
(XV)	1,33 д	+1,20 дд (1,2; 7,7)		
(XVI)	1,37 д	+2,36 дд (1,5; 8,3)		
(XVII)	1,43 д	-10,70 ддд (2,1; 6,2)	-8,30 д (20,2)	
(XVIII)	1,45 д	-10,77 ддд (2,3; 9,1)	-8,61 д (20,3)	
(XIX)	1,43 д	-11,23 ддд (2,2; 7,9)	-21,87 дд (18,8)	-7,44 д (19,0)
(XX)	1,44 д	-11,13 ддд (2,0; 9,0)	-21,60 дд (18,3)	-8,15 д (18,9)

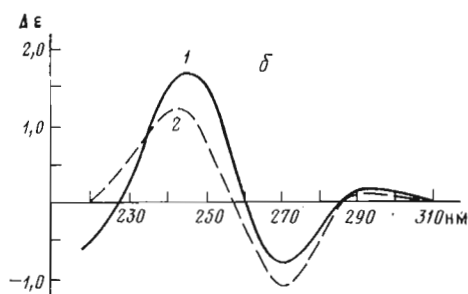
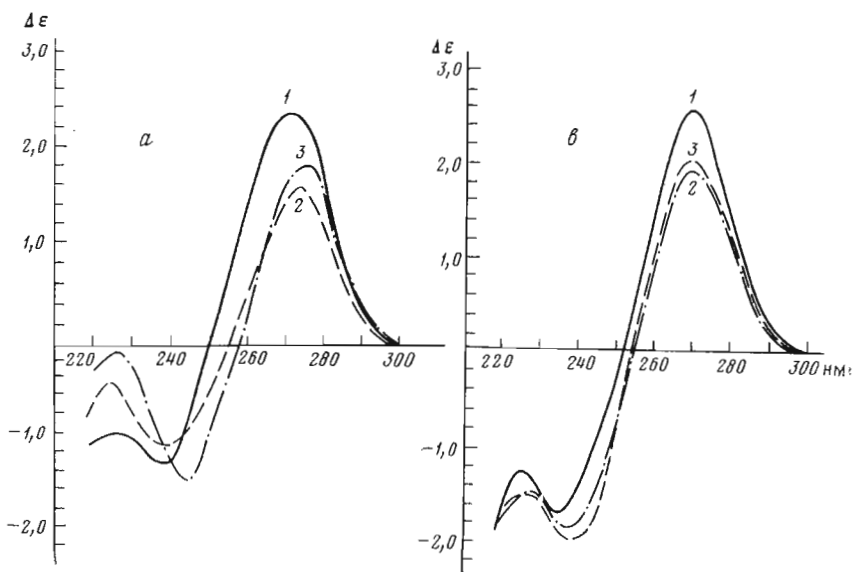
щих 5'-С-метильных производных свидетельствуют о конформационном сходстве этих соединений [11].

Следует отметить, что N3-изомеры (XI) и (XII) имеют характерные КД-спектры, принципиально отличающиеся от спектров N1-замещенных. Это позволяет привлекать данные КД-спектров не только для доказательства конфигурации при C1'-атоме [8, 10], но и для определения места гликозилирования.

Проведенное сравнительное физико-химическое изучение метилфуранозидов [4] и нуклеозидов на основе 6-дезоксид-аллозы и 6-дезоксид-L-талозы не выявило каких-либо принципиальных различий в ЯМР- и КД-спектрах этих соединений, помогающих определить конфигурацию при C5-атоме углеводного остатка. В связи с этим, а также для изучения структуры производных нуклеозидов в кристалле нами был предпринят рентгеноструктурный анализ 5'-С-метилнуклеозидов (*D-алло-* и *L-тало-*ряда), результаты которого, подтверждающие структуру нуклеозидов, будут сообщены в отдельной публикации.

### Экспериментальная часть

Спектры ПМР регистрировали на спектрометре «Varian XL-100» (США) с рабочей частотой 100 МГц; химические сдвиги приведены относительно внутреннего стандарта *трет-*бутанола для растворов в D<sub>2</sub>O и гексаметилдисилоксана для растворов в CDCl<sub>3</sub> и DMSO-*d*<sub>6</sub>; сокращения: ус — уширенный синглет, д — дублет, уд — уширенный дублет, дд — дублет дублетов, ддд — дублет дублетов дублетов, т — триплет, дк — дублет квартетов, м — мультиплет. Соотнесение сигналов проводили с использованием двойного резонанса. В спектрах <sup>31</sup>P-ЯМР химические сдвиги измерены относительно 15%-ной ортофосфорной кислоты в смеси H<sub>2</sub>O--D<sub>2</sub>O (1:1), использованной в качестве внешнего стандарта. Знак химического сдвига определен в шкале частот. УФ-спектры снимали на приборе «Sperord UV-VIS» (ГДР). УФ-спектры полученных в работе нуклеозидов (VIII) и (X) и нуклеотидов (XV)–(XX) по положению максимумов и величинам молярного поглощения аналогичны природным соединениям [12]: λ<sub>макс</sub><sup>PHI-7</sup> 261 нм (ε 10 000), λ<sub>макс</sub><sup>PHI-13</sup> 261 нм (ε 7500). Спектры КД записывали на дихрографе «Jobin — Yvon Dichrographe III» (Франция), используя кюветы с оптическим путем в 1 см при чувствительности прибора 5 · 10<sup>-6</sup>. Хроматографию проводили на пластинках «Silufol UV<sub>254</sub>» (СССР)



Спектры КД в 0,1 М натрий-фосфатном буфере. рН 7 при 20° С. а: 1 — уридин, 2 — соединение (VIII), 3 — соединение (X); б: 1 — 3-изомер (XI), 2 — 3-изомер (XII); в: 1 — уридин-5'-фосфат, 2 — соединение (XV), 3 — соединение (XVI)

и силикагеле JL (40–100 мкм, ЧССР) в системах: изопропанол — конц. аммиак — вода, 7 : 1 : 2 (А);  $\text{CHCl}_3$ —EtOH, 97,5 : 2,5 (Б);  $\text{CHCl}_3$ —EtOH, 9 : 1 (В), и на DEAE-бумаге «Whatman DE-81» (Великобритания) в 0,2 М растворе  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (Г).

1-(2',3',5'-три-О-бензоил-6'-дезоксид-β-D-аллофуранозил)урацил (III) и 3-(2',3',5'-три-О-бензоил-6'-дезоксид-β-D-аллофуранозил)урацил (IV). Смесь 1,1 г (10 ммоль) урацила, 7 мл гексаметилдисилазана и 0,4 мл триметилхлорсилана кипятят ~4 ч до полного растворения, упаривали в вакууме досуха, к остатку добавляли 3,6 г (7 ммоль) 1-О-ацетил-2,3,5-три-О-бензоил-6-дезоксид-β-D-аллофуранозы (I), 40 мл абс. ацетонитрила и 0,84 мл (7 ммоль)  $\text{SnCl}_4$ . Полученный раствор выдерживали 16 ч при 20° С, к смеси добавляли 100 мл хлороформа и 30 мл насыщенного раствора  $\text{NaHCO}_3$ , перемешивали 20 мин при 20° С и фильтровали через Nyflo Super-cel. Водный слой отделяли, экстрагировали хлороформом (2×50 мл), объединенные органические экстракты последовательно промывали насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (2×50 мл), водой (50 мл), сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали и упаривали в вакууме досуха. Остаток (4 г) хроматографировали на колонке с силикагелем (100 г). Элюция хлороформом приводила к соединению (III). Выход 3,2 г (80%). Т. пл. 172–173° С (этанол).  $R_f$  0,35 (Б), 0,89 (В). Спектр ПМР ( $\text{CDCl}_3$ , δ, м.д.): 8,22с (1H, NH, обменивается при добавлении  $\text{D}_2\text{O}$ ); 8,11–7,21м (15H, Vz); 7,08д (1H,  $J_{5,6}$  8,0; 6-H); 6,31д (1H,  $J_{1',2'}$  6,0; 1'-H); 6,00дд (1H,  $J_{3',4'}$  3,5 и  $J_{2',3'}$  6,5; 3'-H); 5,64дд (1H,  $J_{2',3'}$  6,5 и  $J_{1',2'}$  6,0; 2'-H); 5,48дк (1H,  $J_{4',5'}$  3,5 и  $J_{5',6'}$  6,5; 5'-H); 5,33дд (1H,  $J_{5,\text{NH}}$  2,0 и  $J_{5,6}$  8,0; 5-H, после добавления  $\text{D}_2\text{O}$  превращается в дублет с  $J$  8,0); 4,46т (1H,  $J_{3',4'} = J_{4',5'} = 3,5$ ; 4'-H); 1,54д (3H,  $J_{5',6'}$  6,5,  $\text{CH}_3$ ).

Дальнейшая элюция хлороформом давала соединение (IV). Выход 0,6 г (15%). Т. пл. 207–208° С (этанол).  $R_f$  0,13 (Б), 0,73 (В). Спектр ПМР ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 9,98ус (1Н, NH, обменивается при добавлении  $\text{D}_2\text{O}$ ); 8,03–7,15м (16Н, Bz, 6-Н); 6,66д (1Н,  $J_{3',2'}$  1,8; 1'-Н); 6,22м (2Н; 2'-Н и 3'-Н); 5,78дд (1Н,  $J_{5,\text{NH}}$  1,5 и  $J_{5,6}$  7,8; 5-Н, превращается после добавления  $\text{D}_2\text{O}$  в дублет с  $J$  7,8); 5,56дк (1Н,  $J_{4',5'}$  6,0 и  $J_{5',6'}$  6,5; 5'-Н); 4,50дд (1Н,  $J_{4',5'}$  6,0 и  $J_{3',4'}$  7,0; 4'-Н); 1,49д (3Н,  $J_{5',6'}$  6,5;  $\text{CH}_3$ ):

1-(2',3',5'-три-О-бензоил-6'-дезоксид- $\alpha$ -L-галофуранозил)урацил (V) и 3-(2',3',5'-три-О-бензоил-6'-дезоксид- $\alpha$ -L-галофуранозил)урацил (VI) синтезировали аналогично гликозилированием 1-О-ацетил-2,3,5-три-О-бензоил-6-дезоксид- $\alpha,\beta$ -L-галофуранозы (II). Соединение (V): выход 76%;  $R_f$  0,82 (В); спектр ПМР ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 9,05ус (1Н, NH, обменивается при добавлении  $\text{D}_2\text{O}$ ); 8,09–7,21м (15Н, Bz); 7,67д (1Н,  $J_{5,6}$  8,0; 6-Н); 6,37д (1Н,  $J_{1',2'}$  4,5; 1-Н); 5,71дд (1Н,  $J_{5,\text{NH}}$  1,0 и  $J_{5,6}$  8,0, 5-Н, после добавления  $\text{D}_2\text{O}$  превращается в дублет с  $J$  8,0); 5,67м (3Н, 2'-Н, 3'-Н и 5'-Н); 4,51т (1Н,  $J_{4',5'}=J_{3',4'}=3,8$ ; 4'-Н); 1,54д (3Н,  $J_{5',6'}$  6,5,  $\text{CH}_3$ ).

Соединение (VI): выход 13%; т. пл. 200–201° С (этанол);  $R_f$  0,62 (В).

1-(5'-О-бензоил-6'-дезоксид- $\beta$ -D-аллофуранозил)урацил (VII) и 1-(6'-дезоксид- $\beta$ -D-аллофуранозил)урацил (VIII). Раствор 2,85 г (5 ммоль) соединения (III) в 40 мл метанола, полунасыщенного при 0° С аммиаком, оставляли на 16 ч при 20° С, упаривали в вакууме досуха, к остатку добавляли 50 мл воды и экстрагировали этилацетатом (2×50 мл). Органические экстракты сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , фильтровали, упаривали досуха, к остатку добавляли эфир и смесь оставляли на 16 ч при 0° С. Осадок соединения (VII) отделяли и сушили. Выход 1,0 г (55%). Т. пл. 202–203° С.  $R_f$  0,21 (В). Найдено, %: С 56,09; Н 4,92.  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7$ . Вычислено, %: С 56,35; Н 5,01. ПМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ - $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 10,96ус (1Н, NH, обменивается при добавлении  $\text{D}_2\text{O}$ ); 8,0–7,30м (5Н, Bz); 7,12д (1Н,  $J_{5,6}$  8,0; 6-Н); 5,76д (1Н,  $J_{1',2'}$  4,5; 1'-Н); 5,32дк (1Н,  $J_{4',5'}$  3,3 и  $J_{5',6'}$  6,5; 5'-Н); 5,20уд (1Н, OH, обменивается при добавлении  $\text{D}_2\text{O}$ ); 5,13д (1Н,  $J_{5,6}$  8,0; 5-Н); 4,92уд (1Н, OH, обменивается при добавлении  $\text{D}_2\text{O}$ ); 4,92–4,33м (3Н; 2'-Н, 3'-Н и 4'-Н); 1,42д (3Н,  $J_{5',6'}$  6,5,  $\text{CH}_3$ ).

Водный слой упаривали в вакууме досуха, упаривали с абс. этанолом (3×10 мл), к осадку добавляли эфир и отфильтровывали 0,26 г (20%) нуклеозида (VIII). По своим характеристикам соединение (VIII) идентично ранее полученному 5'-С-метилуридину [2, 3].

1-(5'-О-бензоил-6'-дезоксид- $\alpha$ -L-галофуранозил)урацил (IX) и 1-(6-дезоксид- $\alpha$ -L-галофуранозил)урацил (X) получали аналогично синтезу соединений (VII) и (VIII), исходя из защищенного нуклеозида (V). Соединение (IX): выход 39%; т. пл. 175–176° С;  $R_f$  0,23 (В). Найдено, %: С 56,24; Н 5,15.  $\text{C}_{17}\text{H}_{18}\text{N}_2\text{O}_7$ . Вычислено, %: С 56,35; Н 5,01. Спектр ПМР ( $\text{CDCl}_3$ - $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 9,09ус (1Н, NH, обменивается при добавлении  $\text{D}_2\text{O}$ ); 8,07–7,47м (5Н, Bz); 7,65д (1Н,  $J_{5,6}$  8,0; 6-Н); 5,84д (1Н,  $J_{1',2'}$  3,0; 1'-Н); 5,59д (1Н,  $J_{5,6}$  8,0; 5-Н); 5,39дк (1Н,  $J_{4',5'}$  3,0 и  $J_{5',6'}$  6,5; 5'-Н); 5,23уд (1Н,  $J_{5,0}$ , OH, обменивается при добавлении  $\text{D}_2\text{O}$ ); 4,96уд (1Н,  $J_{5,0}$ , OH, обменивается при добавлении  $\text{D}_2\text{O}$ ); 4,07м (3Н; 2'-Н, 3'-Н и 4'-Н); 1,47д (3Н,  $J_{5',6'}$  6,5,  $\text{CH}_3$ ). Выход соединения (X) составил 31%. Т. пл. 192–193° С.  $R_f$  0,52 (А). Спектр ПМР ( $\text{D}_2\text{O}$ ,  $\delta$ , м.д.): 7,93д (1Н,  $J_{5,6}$  8,0; 6-Н); 5,95д (1Н,  $J_{1',2'}$  4,3; 1'-Н); 5,94д (1Н,  $J_{5,6}$  8,0; 5-Н); 4,45–3,91м (4Н, 2'-, 3'-, 4'- и 5'-Н); 1,32д (3Н,  $J_{5',6'}$  6,5,  $\text{CH}_3$ ).

1-(6'-Дезоксид- $\beta$ -D-аллофуранозил)урацил (VIII). Метод А. Раствор 91 мг (0,25 ммоль) соединения (VII) в 4 мл метанола, полунасыщенного при 0° С аммиаком, выдерживали 20 сут при 20° С, упаривали в вакууме досуха, добавляли 10 мл воды, экстрагировали хлороформом (2×10 мл), водный слой упаривали досуха, остаток упаривали со спиртом (3×10 мл), добавляли эфир и отфильтровывали 51 мг нуклеозида (VIII), выход 80%. Время полугидролиза, определенное хроматографически, составляло 4 сут.

Метод Б. Раствор 1,35 г (2,35 ммоль) соединения (III) в 50 мл 0,1 М метилата натрия в метаноле выдерживали 16 ч при 20° С, нейтрализовали сухим диуксом 50 (H<sup>+</sup>-форма), смолу отфильтровывали, промывали метанолом, фильтраты упаривали в вакууме досуха, к остатку прибавляли

30 мл воды, экстрагировали хлороформом (2×20 мл). Водный слой упаривали досуха, остаток упаривали с абс. этанолом (3×20 мл), к остатку добавляли эфир и отфильтровывали нуклеозид (VII). Выход 485 мг (80%).

*1-(6'-Дезокси- $\alpha$ -L-галофуранозил)урацил (X)* получали аналогично по методу А деблокированием соединения (IX), выход 85%. Время гидролиза, определенное хроматографически, составляло 3 сут. Деблокирование производного (V) по методу Б давало нуклеозид (X) с выходом 78%.

*3-(6'-Дезокси- $\beta$ -D-аллофуранозил)урацил (XI)* получали деблокированием соединения (IV) по методу Б с выходом 85%. По своим характеристикам соединение (XI) идентично ранее полученному N3-производному [2].

*3-(6'-Дезокси- $\alpha$ -L-галофуранозил)урацил (XII)* синтезировали из соединения (VI) по методу Б с выходом 80%. Т. пл. 190–191° С.  $R_f$  0,51 (А). УФ-спектр:  $\lambda_{\text{макс}}^{\text{pH}1-7}$  263 нм ( $\epsilon$  8000);  $\lambda_{\text{макс}}^{\text{pH}13}$  293 нм ( $\epsilon$  11 300). Спектр ПМР (D<sub>2</sub>O,  $\delta$ , м.д.): 7,52 (1H,  $J_{5,6}$  7,7; 6-H); 6,30д (1H,  $J_{1',2'}$  3,6; 1'-H); 5,85д (1H,  $J_{5,6}$  7,7; 5-H); 4,53–3,71м (4H; 2'-, 3'-, 4'- и 5'-H); 1,28д (3H,  $J_{5',6'}$  6,5, CH<sub>3</sub>).

*5'-Фосфат 1-(6'-дезокси- $\beta$ -D-аллофуранозил)урацила (XV)*. Раствор 258 мг (1 ммоль) нуклеозида (VIII) в 1,2 мл абс. DMF, 0,4 мл этилового эфира ортомуравьиной кислоты и 0,03 мл 6 М раствора хлористого водорода в DMF выдерживали 16 ч при 20° С. К смеси добавляли 0,05 мл триэтиламина и 10 мл воды и экстрагировали эфиром (10 мл). Водный слой отделяли, экстрагировали этилацетатом (5×10 мл), экстракты сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, фильтровали, упаривали в вакууме досуха и получали 1-(2',3'-О-этоксиметилен-6'-дезокси- $\beta$ -D-аллофуранозил)урацил (XIII), выход количественный,  $R_f$  0,35 (В).

*Метод А.* К раствору соединения (XIII) в 10 мл абс. пиридина добавляли 4 мл 1 М раствора пиридиниевой соли  $\beta$ -цианэтилфосфата в пиридине, упаривали в вакууме досуха, остаток упаривали с абс. пиридином (3×10 мл), к остатку добавляли 10 мл абс. пиридина и 3,45 г (16 ммоль) N,N'-дциклогексилкарбодимида и перемешивали 48 ч при 37° С. К смеси прибавляли 10 мл воды, перемешивали 1 ч при 20° С, фильтровали, осадок промывали 20% водным пиридином, объединенные фильтраты экстрагировали циклогексаном (3×30 мл), водный слой разбавляли водой до объема в 250 мл и наносили на колонку с DEAE-целлюлозой (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-форма, объем 1 л), колонку промывали 1 л воды и хроматографировали в градиенте концентрации NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> (0,0 → 0,1 М, общий объем 9 л). Дизфир элюировался в концентрации 0,03 М NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>. Фракции, содержащие продукт, упаривали в вакууме досуха, упаривали с водой (5×10 мл), к остатку прибавляли 10 мл 1 М NaOH, через 10 мин при 20° С. раствор пропускали через колонку с дауэксом 50 (H<sup>+</sup>-форма, объем 50 мл), к элюату добавляли разбавленный раствор NH<sub>4</sub>OH до pH 9 и лиофилизировали. Выход 253 мг аммониевой соли нуклеотида (XV) составлял 68%.  $R_f$  0,09 (А), 0,69 (Г).

*Метод Б.* Смесь 2',3'-О-этоксиметиленового производного (XIII), полученного из 0,77 ммоль нуклеозида (VIII), 1,5 мл 1 М раствора пиридиниевой соли  $\beta$ -цианэтилфосфата и 5 мл абс. пиридина упаривали в вакууме досуха, остаток упаривали с абс. пиридином (3×10 мл), к остатку добавляли 10 мл абс. пиридина и 0,9 г (3 ммоль) 2,4,6-тринизопропилбензолсульфохлорида и смесь перемешивали 3 ч при 20° С. К реакционной смеси прибавляли 10 мл воды, перемешивали 1 ч при 20° С, экстрагировали эфиром (3×10 мл), водный слой разбавляли до 200 мл и наносили на колонку с DEAE-целлюлозой (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-форма, 1 л). Дальнейшее выделение продукта и деблокирование осуществляли как в методе А. Выход нуклеотида (XV) 191 мг (66%).

*5'-Фосфат 1-(6'-дезокси- $\alpha$ -L-галофуранозил)урацила (XVI)* получали аналогично синтезу нуклеотида (XV) фосфорилированием производного (XIV). Выход 60% (метод А), 71% (метод Б).  $R_f$  0,10 (А), 0,70 (Г).

*5'-Трифосфат 1-(6'-дезокси- $\beta$ -D-аллофуранозил)урацила (XIX)*. К раствору 74 мг (0,2 ммоль) аммониевой соли нуклеотида (XV) в 3 мл

воды добавляли 0,06 мл три-*n*-бутиламина, перемешивали до растворения при 20° С, упаривали в вакууме досуха, упаривали с абс. DMF (3×3 мл), остаток растворяли в 3 мл абс. DMF, добавляли 97 мг (0,6 ммоль) N,N'-карбонилдимидазола и смесь перемешивали 3 ч при 20° С. К смеси добавляли 0,7 мл 1 М раствора метанола в DMF, смесь выдерживали 20 мин при 20° С и добавляли 5 мл 0,2 М раствора три-*n*-бутиламмониевой соли пиррофосфорной кислоты в абс. DMF. Реакционную смесь выдерживали 16 ч при 20° С, осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали в вакууме досуха, остаток растворяли в 200 мл воды и наносили на колонку с DEAE-целлюлозой (HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-форма, 1 л). Колонку промывали водой и хроматографировали в градиенте концентрации NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub> (0,0—0,4 М, общий объем 9 л). Трифосфат (XIX) элюировался в концентрации 0,21 М NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>. Фракции, содержащие продукт, упаривали досуха, упаривали с водой (5×30 мл) и лиофилизировали. Выход 49 мг (50%). R<sub>f</sub> 0,34 (Г).

5'-Дифосфат 1-(6'-дезоксид-β-D-аллофуранозил)урацила (XVII) получали аналогично предыдущему синтезу, используя вместо пиррофосфорной кислоты три-*n*-бутиламмониевую соль фосфорной кислоты. Элюирующая концентрация 0,17 М NH<sub>4</sub>HCO<sub>3</sub>. Выход 35%. R<sub>f</sub> 0,46 (Г).

5'-Трифосфат 1-(6'-дезоксид-α-L-галофуранозил)урацила (XX) получали аналогично трифосфату (XIX). Выход 45%. R<sub>f</sub> 0,35 (Г).

5'-Дифосфат 1-(6'-дезоксид-α-L-галофуранозил)урацила (XVIII) получали аналогично дифосфату (XVII). Выход 58%. R<sub>f</sub> 0,45 (Г).

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Karpeisky M. Ya., Mikhailov S. N., Padyukova N. Sh., Smrt J. Nucl. Acids Res., Symp. Ser., 1981, № 9, p. 157—160.
2. Карпейский М. Я., Михайлов С. Н. Биоорган. химия, 1979, т. 5, № 6, с. 895—905.
3. Padyukova N. Sh., Smrt J. Collect. Czech. Chem. Commun., 1980, v. 45, № 9, p. 2550—2557.
4. Михайлов С. Н., Падюкова Н. Ш., Стручкова М. И., Яроцкий С. В. Биоорган. химия, 1982, т. 8, № 7, с. 926—932.
5. Vorbruggen H. 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.
6. Tener G. M. J. Amer. Chem. Soc., 1961, v. 83, № 1, p. 159—168.
7. Kozarich J. W., Chinault A. C., Hecht S. M. Biochemistry, 1973, v. 12, № 22, p. 4458—4463.
8. Rogers G. T., Ulbricht T. L. V. Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1970, v. 39, № 3, p. 414—418.
9. Miles D. W., Inskeep W. H., Robins M. J., Winkley M. W., Robins R. K., Eyring H. J. Amer. Chem. Soc., 1970, v. 92, № 13, p. 3872—3881.
10. Miles D. W., Robins M. J., Robins R. K., Winkley M. W., Eyring H. J. Amer. Chem. Soc., 1969, v. 91, № 4, p. 831—838.
11. Davies D. V. In: Progress in NMR spectroscopy. Pergamon Press, 1978, v. 12, p. 135—225.
12. Albert A. In: Synthetic procedures in nucleic acid chemistry. Wiley — Interscience, 1973, v. 2, p. 47—123.

Поступила в редакцию  
1.11.1982

#### SYNTHESIS OF 5'-MONO-, DI- AND TRIPHOSPHATES OF 5'-C-METHYLURIDINES

KARPEISKY M. YA., MIKHAILOV S. N., PADYUKOVA N. SH.

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

Glycosylation of bis(trimethylsilyl)uracil with 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-6-deoxy-β-D-allofuranose and 1-O-acetyl-2,3,5-tri-O-benzoyl-6-deoxy-α,β-L-talofuranose followed by the removal of protecting groups produced 5'-C-methyluridines (of *D-allo* and *L-talo* series). Phosphorylation of the 2',3'-O-ethoxymethylene derivatives of 5'-C-methyluridines with β-cyanoethylphosphate in the presence of DCC or 2,4,6-trisopropylbenzenesulfonyl chloride and subsequent removal of the protecting groups yielded 5'-C-methyluridine 5'-phosphates, which were converted to the corresponding 5'-di- and 5'-triphosphates.