



УДК 546.172.057 : 577.112.4 : 577.113.4

**СЕРОСОДЕРЖАЩИЕ ГИДРОСИЛАМИНЫ  
ДЛЯ ИНГИБИРОВАНИЯ ФЕРМЕНТОВ  
И МОДИФИКАЦИИ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ***Хомутов А. Р., Хомутов Р. М.\***Институт органической химии им. Н. Д. Зелинского Академии наук СССР, Москва;**\*Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва*

Осуществлен синтез ряда новых полифункциональных SH-содержащих, включая производные по сере, и неизвестных ранее сульфонийсодержащих O-замещенных гидросиламинов. Показана устойчивость O-эфиров этилового эфира ацетгидроксимовой кислоты в реакциях окисления C=C-связи до диолов по Вагнеру, сульфидов до сульфонов и меркаптанов до дисульфидов.

Обсуждаются результаты использования синтезированных соединений для специфического и эффективного ингибирования ферментов и модификации нуклеиновых кислот.

Подобно самому гидросиламину его замещенные по кислороду производные являются типовыми ингибиторами ферментов обмена аминокислот, образуя оксимы с карбонильной группой кофермента (пиридоксаль-5'-фосфатом) или остатком кетокислоты в активном центре. Было показано, что изменение строения радикала в производном гидросиламина на порядки меняет избирательность и эффективность действия ингибиторов [1—3]. Однако для регулирования обмена серосодержащих аминокислот этот вид ингибиторов до сих пор не был использован, поскольку соответствующие серосодержащие гидросиламины не были известны. В этой работе описывается синтез новых ингибиторов декарбоксилазы S-аденозилметионина и  $\gamma$ -цистатиназы, а также высокорастворимых в воде гидросиламинов для модификации нуклеиновых кислот и обсуждаются данные ферментативных испытаний.

Среди серосодержащих гидросиламинов известны только три простейших аминоксиалкилмеркаптана общего вида:  $H_2NO(CH_2)_nSH$ ,  $n = 2, 3, 4$  [4—6], а методы создания полифункциональных соединений этого ряда по существу не разработаны. Стратегия описываемых в настоящей работе синтезов состояла во введении в исходное соединение на первых стадиях защищенной аминоксигруппы с последующими превращениями в органическом радикале. В качестве производного гидросиламина был выбран этиловый эфир ацетгидроксимовой кислоты («оксиминоэфир») [7]. Помимо известных преимуществ этого метода введения N-защищенной аминоксигруппы в органические соединения [6—14] в настоящей работе показана устойчивость C=N-связи O-эфиров этилового эфира ацетгидроксимовой кислоты в условиях окисления C=C-связи до диолов по Вагнеру, тиоэфиров до сульфонов, меркаптанов до дисульфидов, а также в условиях получения солей сульфония.

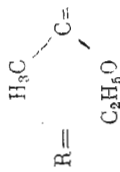
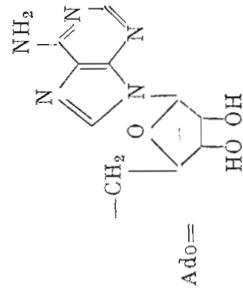
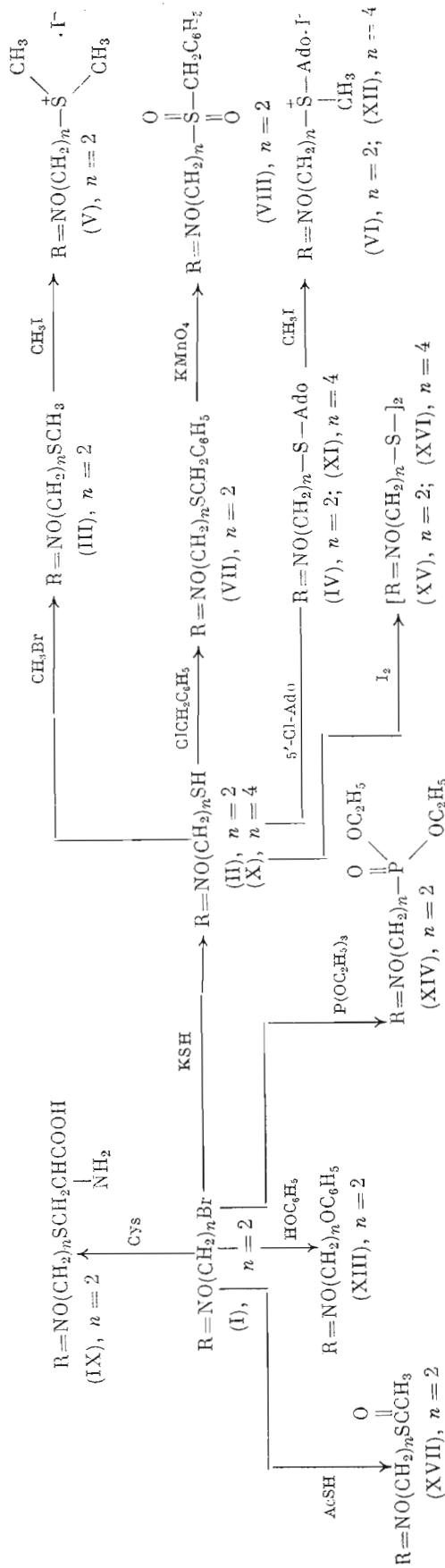
Ключевым соединением в синтезе  $\beta$ -замещенных этилгидросиламинов явился 1-этоксипропан-2-аминоокси-2-бромэтан (I) (схема 1), единственным приемлемым вариантом получения которого оказалось алкилирование «оксиминоэфира» в необычных для него условиях — при нагревании в водной щелочи. Дальнейшие превращения производного (I) включали аминоксипропан-2-аминоокси-2-бромэтан (I) также гладко алкилирует фенол — синтез соединения (XIII) — и вступает в реакцию Арбузова — синтез соединения (XIV).

\* 1-Этоксипропан-2-аминоокси-2-бромэтан (I) также гладко алкилирует фенол — синтез соединения (XIII) — и вступает в реакцию Арбузова — синтез соединения (XIV).

## Схема 1

Синтез некоторых O-замещенных O-этилгидроксиламинов

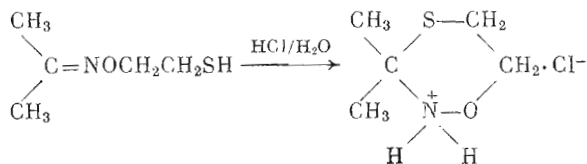
Гидроксиламы (Ia)–(VIIa), (IXa)–(XVIa) получены гидролизом соответствующих N-замещенных производных (I)–(XVI) эквивалентным количеством соляной кислоты



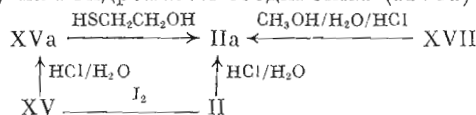
защищенного аминоксиэтилмеркаптана (II) 5'-хлораденозином, хлористым бензилом и метилбромидом. Метилирование сульфидов (III) и (IV) в уксусной кислоте приводило к N-защищенным солям сульфония (V) и (VI).

Удаление N-защитной группы действием эквивалентных количеств воды и хлористого водорода давало без осложнений целевые гидроксил-амины (Ia)—(VIIa), (IXa—XVIa), (XVIIIa), (XXIa), (XXIIa), (XXVa); см. схемы 1 и 2. В ряде случаев были получены удобные для выделения сульфаты (IIIa)—(VIa), (XIa), (XIIa) вместо плохо кристаллизующихся хлоргидратов.

Ранее [5] не удалось получить аминоксиэтилмеркаптан (IIa) гидролизом изопропилиденаминоксиэтилмеркаптана из-за превращения последнего в устойчивое в кислых условиях циклическое производное:



Однако действие эквивалентных количеств воды и хлористого водорода на соединение (II) приводит к единственному продукту — гидроксил-амину (IIa), который был получен также встречным синтезом восстановлением дисульфида (XVa) или гидролизом соединения (XVII)\*



В стандартных условиях окисления сульфгидрильных групп иодом удается превратить N-защищенные аминоксиэтил- и аминоксибутилмеркаптаны (II) и (X) в соответствующие дисульфиды (XV), (XVI), гидролиз которых дает содержащие S—S-связи гидроксил-амины (XVa) и (XVIa). Без затрагивания N-защитной группы проходит окисление водным перманганатом и тиоэфира (VII) (схема 1) до сульффона (VIII).

Основываясь на устойчивости C=N-связи в тиоэфире (VII) к действию перманганата мы осуществили синтез аминокситиотреита (XXIa) из N-защищенного *транс*-1-аминокси-4-бромбутена-2 (XVIII). Селективным окислением двойной связи по Вагнеру был получен диол (XIX), который далее ацетиловали, затем вводили сульфгидрильную группу и после удаления всех защит получали аминокситиотреит (XXIa) с суммарным выходом 28%, считая на соединение (XVIII) (схема 2). В этом синтезе возможно использовать и ацетонксимную защиту, но жесткие условия удаления последней приводили к соединению (XXIa) с существенно более низким выходом.

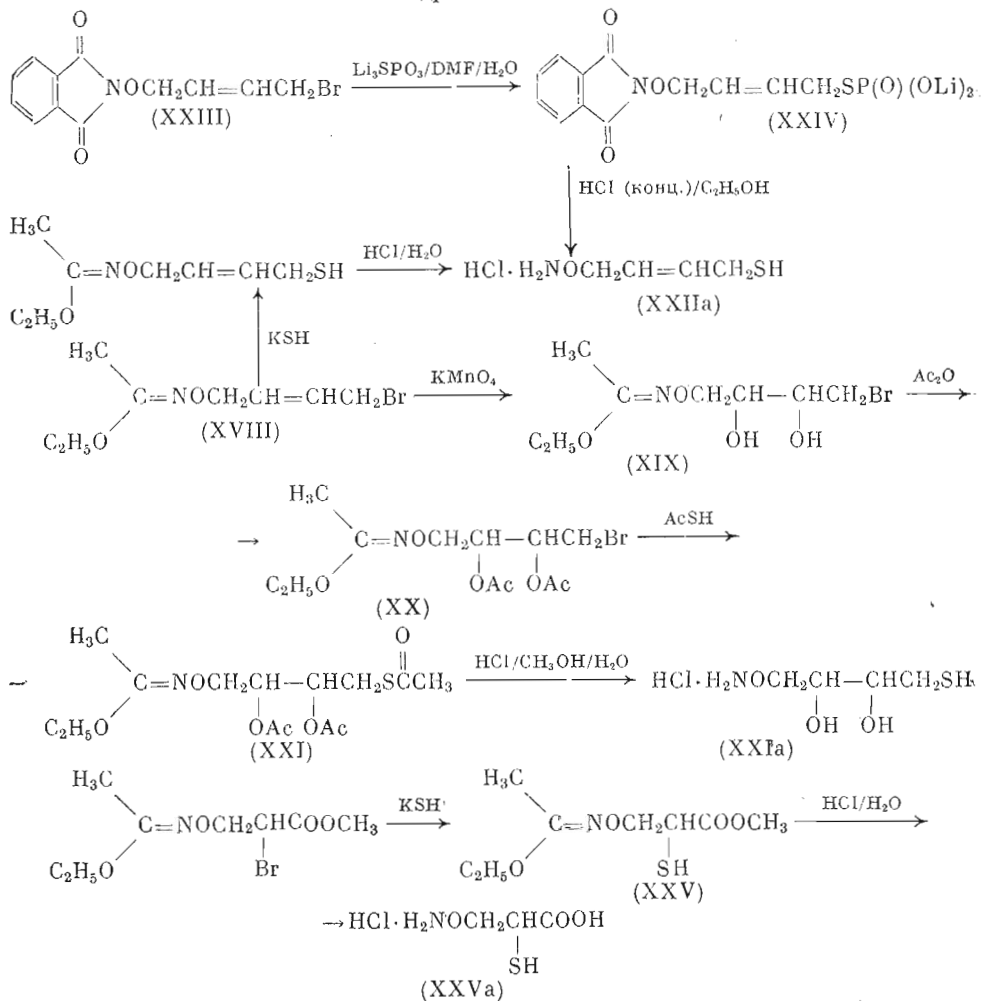
При использовании N-фталоксимной защиты, хотя и удается осуществить окисление соответствующего производного (XXIII) до диола, попытки введения сульфгидрильной группы в последний стандартными методами, аналогично попыткам получения ω-(N-оксифталимида)алкилмеркаптанов [4], оказались безуспешными. Вместе с тем использование трилитийтиофосфата для введения защищенной сульфгидрильной группы позволяет получить аллильное производное (XXIV), гидролиз которого привел к соединению (XXIIa).

Соединения (IIIa)—(VIa), (XIa), (XIIa) были использованы для ингибирования декарбоксилазы S-аденозилметионина — одного из ключевых ферментов биосинтеза полиаминов (КФ 4.1.1.50). Эффективность действия (таблица) была тем выше, чем ближе структура ингибитора соответствовала продукту ферментативной реакции — декарбоксилированному S-аде-

\* Температура плавления гидроксил-амин (IIa), полученного этими способами, отличалась от приведенной в работе [5], хотя данные ПМР-спектров совпадали, а результаты анализа соответствовали вычисленным.

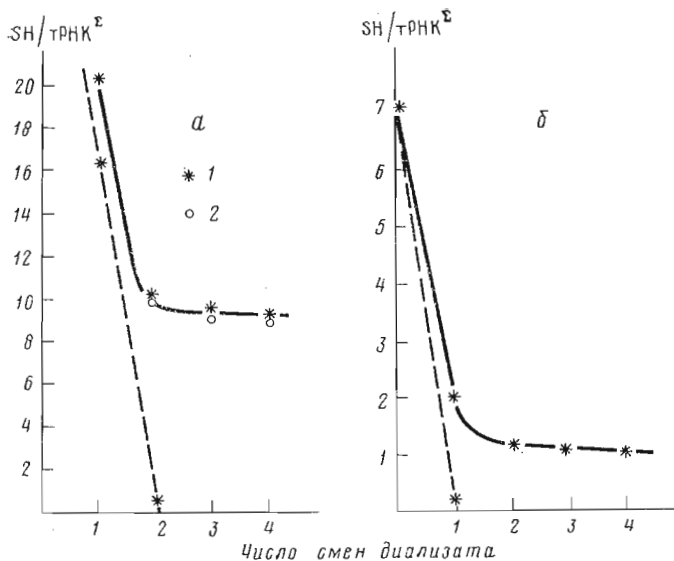
Схема 2

Синтез некоторых полифункциональных SH-содержащих O-замещенных гидросиламинов



нозилметионину [45], а гидросиламин (VIa) оказался почти на три порядка эффективнее лучших из известных в литературе ингибиторов этого фермента. Аденозиновый фрагмент и положительно заряженный сульфониновый центр оказались необходимыми элементами структуры ингибиторов, являясь, по-видимому, основными участками узнавания, вклад которых в эффективность торможения составляет несколько порядков (ср. соединения (VIa) и (IVa), (VIa) и (Va)). Незаряженная аминоксигруппа ( $pK_a \sim 4,5-5,0$ ) обеспечивает образование оксима между производными гидросиламина и остатком пирувата — протетической группой декарбоксилазы S-аденозилметионина, находящейся в активном центре в свободном состоянии, поэтому торможение декарбоксилазы S-аденозилметионина данными соединениями развивалось во времени, а ингибирование было необратимым. Таким образом, для ферментов типа декарбоксилазы S-аденозилметионина замещенные по кислороду гидросиламины, близкие по строению субстрату или продукту, являются, по-видимому, одним из оптимальных типов ингибиторов.

$\beta$ - $\gamma$ -Замещающая пиридоксаль-5'-фосфатзависимая лиаза —  $\gamma$ -цистатионаза (КФ 4.4.1.1), являющаяся важным ферментом обмена серы, так же как и декарбоксилаза S-аденозилметионина, чувствительна к карбонильным реагентам, в том числе и производным гидросиламина. Субстратоподобный S-аминоксипептид (IXa) обладал наибольшей специфичностью среди других изученных производных O-замещенных гидросила-



Введение сульфгидрильных групп в ТРНК<sup>2</sup> (а) и по 3'-окисленной концевой рибозе ТРНК<sup>2</sup> (б). Сплошная линия — опыт, пунктир — контроль. Условия модификации приведены в «Экспер. части»

минов и был достаточно активным. Торможение фермента, вызванное действием (IXa), развивалось во времени, а удаление избытка ингибитора диализом или гель-фильтрацией приводило к восстановлению активности фермента. Эти особенности действия производного (IXa) хорошо согласуются с данными о характере связи кофермента с апоферментом в  $\gamma$ -цистатиназе [16].

Как следует из изложенного выше, гидроксилламинсодержащие ингибиторы декарбоксилазы S-аденозилметионина и  $\gamma$ -цистатиназы являются структурными аналогами продукта и субстрата ферментативной реакции. Правомерность такого подхода согласуется с результатами рентгеноструктурных исследований комплексов аспартат-трансаминазы с аминоксикарбоновыми и аминоксифосфовыми кислотами, которые показали, что

**Ингибирование декарбоксилазы S-аденозилметионина и  $\gamma$ -цистатиназы гидроксилламинсодержащими аналогами продукта и субстрата ферментативных реакций\***

Соединение	Декарбоксилаза S-аденозилметионина		$\gamma$ -Цистатиназа печени крысы
	<i>E. coli</i>	печени крысы	
$\text{H}_2\text{NO}-(\text{CH}_2)_2-\overset{+}{\text{S}}-\text{Ado}$ (VIa)   CH <sub>3</sub>	$2 \cdot 10^{-8}$	$3 \cdot 10^{-9}$	Не определяли
$\text{H}_2\text{NO}-(\text{CH}_2)_2-\text{S}-\text{Ado}$ (IVa)	$1 \cdot 10^{-4}$	$4 \cdot 10^{-5}$	»
$\text{H}_2\text{NO}-(\text{CH}_2)_4-\overset{+}{\text{S}}-\text{Ado}$ (XIIa)   CH <sub>3</sub>	$9 \cdot 10^{-7}$	$8 \cdot 10^{-9}$	»
$\text{H}_2\text{NO}-(\text{CH}_2)_4-\text{S}-\text{Ado}$ (XIa)	$5 \cdot 10^{-4}$	$2 \cdot 10^{-4}$	»
$\text{H}_2\text{NO}-(\text{CH}_2)_2-\overset{+}{\text{S}}-\text{CH}_3$ (Va)   CH <sub>3</sub>	$5 \cdot 10^{-4}$	Не определяли	»
$\text{H}_2\text{NO}-(\text{CH}_2)_2-\text{S}-\text{CH}_3$ (IIIa)	$2 \cdot 10^{-4}$	»	$5 \cdot 10^{-4}$
$\text{H}_2\text{NO}-(\text{CH}_2)_2-\text{S}-\text{Cys}$ (IXa)	Не определяли	»	$7 \cdot 10^{-6}$

\* Приведены концентрации соединений (M), вызывающие 50% ингибирование фермента.

оксим фермента с аминоксиксусной или  $\beta$ -аминоксипропионовой кислотами близок по структуре комплексу аспарат-трансаминазы с  $\alpha$ -метиласпаратом [17].

Для модификации цитидина и введения сульфгидрильных групп в нуклеиновые кислоты была получена  $\beta$ -аминокси- $\alpha$ -меркаптопропионовая кислота (XXVa) (схема 2), поскольку аминоксисэтил- и аминоксибутилмеркаптаны ((IIa) и (Xa)) в силу плохой растворимости в воде при нейтральных и слабокислых pH оказались пригодны только для реакций по окисленной 3'-концевой рибозе нуклеиновых кислот. Хорошо растворимый в воде и не заряженный в условиях модификации нуклеиновых кислот *O*-метилгидроксиламином аминокситиотреит (XXIa) представлялся более оптимальной структурой для введения SH-группы в нуклеиновые кислоты по сравнению с соединением (XXVa).

Использование аминокситиотреита (XXIa) для введения реакционно-способных SH-групп по цитидиновым остаткам тРНК<sup>2</sup> *E. coli* в условиях модификации нуклеиновых кислот *O*-метилгидроксиламином (в тРНК<sup>2</sup> *E. coli* в 1 М *O*-[<sup>14</sup>C]метилгидроксилаmine, pH 5,0 (37°С и 16 ч) включается 10,1 остатка *O*-[<sup>14</sup>C]метилгидроксиламина) позволило получить тРНК<sup>2</sup>, несущую около 9 сульфгидрильных групп (рисунок), титруемых реактивом Элмана [18] и *n*-хлормеркур-*o*-нитрофенолом [19]. Менее растворимый в воде аминоксибутилмеркаптан (Xa) оказался пригоден лишь для избирательной модификации 3'-окисленной концевой рибозы тРНК<sup>2</sup> (см. рисунок).

### Экспериментальная часть

ТСХ аденозиновых производных (IV), (VI), (XI), (XII), (IVa), (VIa), (XIa), (XIIa) проводили на пластинках целлюлозы F<sub>254</sub> (Merck, ФРГ), остальных соединений — на пластинках силифол UV<sub>254</sub> (Kavalier, ЧССР), электрофорез — на бумаге FN-18 (ГДР). Системы для хроматографии: изопропанол — 25% NH<sub>4</sub>OH — вода, 7:1:2 (А); *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 12:3:5 (Б); хлороформ (В); метанол — хлороформ, 1:9 (Г); этилацетат — хлороформ, 3:7 (Д); этилацетат — хлороформ, 1:9 (Е); метанол — хлороформ, 2:8 (Ж). Буфер для электрофореза: муравьиная кислота — уксусная кислота — вода, 2:8:90 (И), pH 2,0. Градиент напряжения при электрофорезе 40 В/см. Обнаружение веществ при электрофорезе проводили по УФ-поглощению и флуоресценции после обработки пиридоксаль-5'-фосфатом. При хроматографии: по УФ-поглощению, флуоресценции после обработки раствором пиридоксаль-5'-фосфата, с помощью раствора нитропруссид натрия или парами иода; гемодиольную группировку проявляли бензидиновой реакцией. УФ-спектры снимали на спектрофотометре Бекман 25 (США), спектры ПМР снимали в D<sub>2</sub>O (внутренний стандарт — *трет*-бутанол) и в CDCl<sub>3</sub> на спектрофотометре XL-100-15 (Varian, США) с рабочей частотой 100 МГц и измеряли в миллионных долях в шкале  $\delta$ . Очистка ферментов и условия определения констант ингибирования описаны ранее [15], [20].

*1-Этоксигтилиденаминокси-2-бромэтан (I)*. К смеси 103 г (1,0 моль) этилового эфира ацетгидроксимовой кислоты [7], 275 мл (3,2 моль) дибромэтана и 150 мл воды, нагреваемой на кипящей водяной бане, при перемешивании медленно прибавляли раствор 60 г (1,5 моль) NaOH в 100 мл воды, по достижении нейтрального pH смесь охлаждали, органический слой отделяли и сушили MgSO<sub>4</sub>. После двух перегонки получали 59 г (выход 28%) соединения (I) с т. кип. 76–76,5°С (10 мм рт. ст.),  $n_D^{20}$  1,4631. Найдено, %: С 34,28; Н 5,73; Br 38,00; N 6,44. C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>BrNO<sub>2</sub>. Вычислено, %: С 34,30; Н 5,76; Br 38,04; N 6,67. ПМР: 4,09 (т, 2H, NOCH<sub>2</sub>), 3,96 (кв, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>), 3,43 (т, 2H, BrCH<sub>2</sub>), 1,88 (с, 3H, CH<sub>3</sub>), 1,24 (т, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

*Хлоридрат 1-аминокси-2-бромэтана (Ia)*. К 2,1 г (0,01 моль) соединения (I) в 10 мл изопропанола прибавляли 1,1 мл конц. соляной кислоты, упаривали досуха и остаток кристаллизовали из изопропанола с эфиром. Получали 1,59 г (выход 90%) соли (Ia), т. пл. 173°С. ПМР: 4,35 (т, 2H, OCH<sub>2</sub>), 3,60 (т, 2H, CH<sub>2</sub>Br). Лит. данные [5]: т. пл. 173–174°С (этанол — эфир).

*1-Этоксигтилиденаминокси-2-меркаптоэтан (II)*. К насыщенному сероводородом при 0°С раствору 7 г (0,1 моль) KOH в 70 мл метанола прибавляли в течение 0,5 ч, не прекращая тока H<sub>2</sub>S, 21,0 г (0,1 моль) соединения (I) и затем оставляли на 3 сут в плотно закрытой колбе при 20°С.

Метанол отгоняли, остаток выливали в воду, экстрагировали хлороформом и высушивали  $MgSO_4$ . После двух перегонки получали 12,6 г (выход 77%) соединения (II) с т. кип. 82,5–83,5°С (13 мм рт. ст.),  $n_D^{20}$  1,4675. Найдено, %: С 44,02; Н 8,15; N 8,36; S 19,47.  $C_6H_{13}NO_2S$ . Вычислено, %: С 44,15; Н 8,03; N 8,58; S 19,60.

*Хлоргидрат 1-аминоокси-2-меркаптоэтана (IIa)* получали тремя способами.

1. Гидролизом 1,63 г (0,01 моль) соединения (II), аналогично описанному для синтеза хлоргидрата (Ia), получали 1,15 г (выход 88%) соли (IIa), т. пл. 132–134°С (изопропанол – эфир), с разл. ПМР: 4,09 (т, 2H, OCH<sub>2</sub>), 2,72 (т, 2H, HSCH<sub>2</sub>). Найдено, %: С 18,50; Н 6,11;  $C_2H_5ClNOS$ . Вычислено, %: С 18,53; Н 6,22. Лит. данные [5]: т. пл. 70–71°С (этанол – эфир).

2. К раствору 2,57 г (0,01 моль) дихлоргидрата (XVa) в 50 мл 0,4 М NaOH прибавляли 3,6 г (0,05 моль) β-меркаптоэтанола, оставляли на ночь при 20°С. Прибавляли 50 мл H<sub>2</sub>O и наносили на колонку (10 мл) с сульфосмолой Дауэкс 50×8 (100–200 меш, H<sup>+</sup>-форма). Колонку промывали водой до отрицательной пробы на SH-группы. Хлоргидрат (IIa) элюировали 1 М соляной кислотой, упаривали и остаток кристаллизовали из изопропанола с эфиром. Получали 1,14 г (выход 44%) хлоргидрата (IIa). ПМР: идентичен спектру хлоргидрата (IIa), полученному из соединения (II), и литературным данным [5].

3. К раствору 1,025 г (5 ммоль) соединения (XVII) в 4 мл метанола прибавляли 0,1 мл (5,5 ммоль) воды, 2,2 мл 4,7 М раствора HCl в метаноле и оставляли на 48 ч при 20°С. Раствор упаривали досуха и остаток кристаллизовали из изопропанола с эфиром. Получали 0,58 г (выход 90%) хлоргидрата (IIa). ПМР: идентичен спектру хлоргидрата (IIa), полученному из соединения (II), и литературным данным [5].

*1-Этоксигетилиденаминоокси-2-метилтиоэтан (III)*. К раствору 8,15 г (0,05 моль) соединения (II) в 50 мл 1 М этанольного раствора этилата натрия при 0°С при перемешивании по каплям добавляли раствор 4,25 г (0,05 моль) бромистого метила в 20 мл абс. этанола и оставляли на 12 ч при 0°С. Смесь фильтровали и спирт упаривали. Остаток перегоняли и получали 6,2 г (выход 70%) сульфида (III) с т. кип. 98–99°С (13 мм рт. ст.),  $n_D^{20}$  1,4681. Найдено, %: С 47,52; Н 8,82; S 17,53.  $C_7H_{15}NO_2S$ . Вычислено, %: С 47,43; Н 8,53; S 18,05,  $R_f$  0,85 (Б).

*Сернистый 1-аминоокси-2-метилтиоэтан (IIIa)*. К 0,53 г (3 ммоль) сульфида (III) в 8 мл этанола прибавляли 2 мл 2 н. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>. Упаривали досуха и остаток кристаллизовали из водного этанола. Получали 1,65 г (выход 76%) соли (IIIa), т. пл. 167–168°С.  $R_f$  0,42 (Б). Найдено, %: С 22,88; Н 6,66; N 8,67; S 31,13.  $C_5H_9NOS \cdot 0,5H_2SO_4$ . Вычислено, %: С 23,07; Н 6,45; N 8,97; S 30,79. ПМР: 4,10 (т, 2H, OCH<sub>2</sub>), 2,84 (т, 2H, SCH<sub>2</sub>), 2,18 (с, 3H, SCH<sub>3</sub>).

*5'-Дезокси-5'-(1-этоксигетилиденаминооксигетилтио)аденозин (IV)*. Раствор 2,5 г (15 ммоль) натриевой соли соединения (II) и 1,5 г (5 ммоль) 5'-дезоксигетил-5'-хлораденозина [21] в 15 мл абс. диметилсульфоксида выдерживали 6 ч при 20°С, нейтрализовали ледяной уксусной кислотой и упаривали досуха. Остаток кристаллизовали из воды и получали 1,97 г (выход 95%) сульфида (IV), т. пл. 103°С,  $R_f$  0,92 (А), 0,89 (Б),  $E_{Ado}$  0,92 (И). Найдено, %: С 45,40; Н 5,97; N 19,67.  $C_{10}H_{22}N_6O_5S \cdot 0,5H_2O$ . Вычислено, %: С 45,59; Н 5,98; N 19,94.

*Сернистый 5'-дезоксигетил-5'-(1-аминооксигетилтио)аденозин (IVa)*. 0,38 г (0,9 ммоль) сульфида (IV) растворяли в 5 мл 2 н. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, прибавляли 75 мл горячего абс. этанола и по охлаждению выкристаллизовывали 0,380 г (выход 90%) соли (IVa). Т. пл. 158–159°С (с разл.),  $R_f$  0,55 (А),  $R_f$  0,72 (Б),  $E_{Ado}$  1,35 (И). Найдено, %: С 31,51; Н 4,89; N 17,65.  $C_{12}H_{18}N_6O_4S \cdot H_2SO_4 \cdot H_2O$ . Вычислено, %: С 31,44; Н 4,83; N 18,33. ПМР: 8,52 (с, 1H, H-8), 8,47 (с, 1H, H-2), 6,13 (д, 1H,  $I_{H-N}$  4,9 Гц, H-1'), 4,15 (т, 2H, NH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 3,06 (м, 2H, 5'-CH<sub>2</sub>), 2,88 (т, 2H, CH<sub>2</sub>S).

*Иодгидрат 1-этоксигетилиденаминоокси-2-(S-диметил)-меркаптоэтана (V)*. 0,32 г (1,8 ммоль) сульфида (III) в 1 мл ледяной уксусной кислоты и

1 мл иодистого метила оставляли в темноте при 20° С на 4 сут и упаривали досуха. Остаток растворяли в абс. этаноле и осаждали сульфид (V) добавлением абс. эфира. Получали 0,42 г (выход 72%) иодгидрата (V),  $R_f$  0,26 (B).

*Сернокислый 1-аминоокси-2-(S-диметил)-меркаптоэтан (Va)*. 0,415 г (1,3 ммоль) подгидрата (V) растворяли в 3 мл 2 н.  $H_2SO_4$ , упаривали почти досуха и выделяли сульфат (Va) последовательной обработкой этанолом и метанолом. Получали 0,15 г (выход 53%) соединения (Va), т. пл. 170–171° С (метанол – вода). Найдено, %: С 21,90; Н 6,10; N 6,28; S 29,20.  $C_4H_{14}NOS \cdot H_2SO_4$ . Вычислено, %: С 21,91; Н 5,98; N 6,39; S 29,25. ПМР: 4,59 (т, 2Н,  $OCH_2$ ), 3,75 (т, 2Н,  $CH_2S$ ), 3,01 (с, 6Н,  $CH_3$ ).

*Иодгидрат 5'-дезоксидеокси-5'-[(1-этоксигтилиденаминооксиэтил)тиометил]-аденозина (VI)*. К раствору 1,02 г (2,46 ммоль) сульфида (IV) в 9 мл ледяной уксусной кислоты прибавляли 9 мл иодистого метила, оставляли на 4 сут в темноте при 20° С, упаривали наполовину и к остатку прибавляли абс. эфир. Выделившееся масло отделяли, растирали со свежей порцией абс. эфира и получали 1,08 г (выход 79%) иодгидрата (VI),  $R_f$  0,69 (B),  $E_{\text{Лдо}}$  1,34 (Ж).

*Сульфат сернокислого 5'-дезоксидеокси-5'-[(1-аминооксиэтил)тиометил]аденозина (VIa)*. 0,64 г (1,27 ммоль) иодгидрата (VI) растворяли в 14,4 мл 2 н.  $H_2SO_4$ , через 10–15 мин прибавляли 160 мл абс. этанола и оставляли на ночь при –10° С. Частично закристаллизовавшееся масло отделяли, растирали со свежей порцией абс. этанола и получали 0,5 г (выход 70,2%) сульфата (VIa), т. пл. 148–149° С, с разл. (спирт – вода);  $R_f$  0,52 (B),  $E_{\text{Лдо}}$  1,61 (И),  $\lambda_{\text{макс}}$  260 нм,  $A_{250}/A_{260}$  0,88,  $A_{280}/A_{260}$  0,17. Найдено, %: С 27,89; Н 4,60; N 14,70.  $C_{13}H_{21}N_6O_4S \cdot H_2SO_4 \cdot HSO_4 \cdot 0,5H_2O$ . Вычислено, %: С 27,80; Н 4,49; N 14,97. ПМР: 8,50 (с, 1Н, Н-8), 8,48 (с, 1Н, Н-2), 6,18 (д, 1Н,  $J_{H-H}$  4,3 Гц, Н-1'), 4,60 (т, 2Н,  $NH_2OCH_2$ ), 4,00 (м, 2Н, 5'- $CH_2$ ), 3,84 (м, 2Н,  $CH_2CH_2S$ ), 3,05 (2с, 6Н,  $CH_3$ ).

*1-Этоксигтилиденаминоокси-2-бензилтиоэтан (VII)*. К раствору 6,2 г (38 ммоль) соединения (II) в 40 мл 1 М метанольного раствора метилата натрия при 0° С и перемешивании по каплям добавляли раствор 4,7 г (38 ммоль) хлористого бензила в равном объеме метанола и смесь оставляли на ночь при 0° С. Реакционную смесь нейтрализовали ледяной уксусной кислотой, фильтровали, фильтрат упаривали. Остаток выливали в воду, экстрагировали  $CHCl_3$ , сушили  $MgSO_4$ . После двух перегонки получали 6,95 г (выход 72%) тиоэфира (VII), т. кип. 113–114° С (0,2 мм рт. ст.),  $n_D^{23}$  1,5291,  $R_f$  0,50 (B). Найдено, %: С 61,69; Н 7,33; N 5,40.  $C_{13}H_{19}NO_2S$ . Вычислено, %: С 61,62; Н 7,56; N 5,53. ПМР: 7,36–7,26 (ароматич. протоны), 4,05 (т, 2Н,  $NOCH_2$ ), 4,03 (кв, 2Н,  $CH_2O$ ), 3,73 (с, 2Н,  $CH_2S$ ), 2,73 (т, 2Н,  $CH_2S$ ), 1,97 (с, 3Н,  $CH_3$ ), 1,34 (т, 3Н,  $CH_3$ ).

*Хлоргидрат 1-аминоокси-2-бензилтиоэтана (VIIa)*. К раствору 0,506 г (2 ммоль) соединения (VII) в 2 мл изопропанола прибавляли 0,25 мл конц. соляной кислоты и упаривали досуха. Остаток кристаллизовали из изопропанола с эфиром и получали 0,37 г (выход 80%) хлоргидрата (VIIa), т. пл. 92–94° С. Найдено, %: С 49,33; Н 6,75; N 6,25.  $C_9H_{14}ClNOS$ . Вычислено, %: С 49,19; Н 6,42; N 6,37.

*1-Этоксигтилиденаминоокси-2-бензилэтилсульфон (VIII)*. К 1,52 г (6 ммоль) тиоэфира (VII) в 100 мл абс. этанола по каплям добавляли при 20° С раствор 1,26 г (8 ммоль)  $KMnO_4$  в 25 мл воды, содержащей 0,46 мл (8 ммоль) уксусной кислоты, фильтровали через целит Super-Cel (Johns – Manville, США) и промывали абс. этанолом. Спирт из фильтрата отгоняли, остаток экстрагировали  $CHCl_3$  и сушили  $MgSO_4$ . Сульфон (VIII) выделяли колоночной хроматографией на силикагеле 5/40 мкм (Chemarol, СССР) в  $CHCl_3$ . Получали 0,18 г сульфона (VIII) (выход 10%, остальное – не вошедшее в реакцию соединение (VII)),  $R_f$  0,08 (B). ПМР: 7,39–7,28 (ароматич. протоны), 4,34 (т, 2Н,  $NOCH_2$ ), 4,08 (с, 2Н,  $CH_2Br$ ), 4,01 (кв, 2Н,  $CH_2O$ ), 3,04 (т, 2Н,  $CH_2SO_2$ ), 1,97 (с, 3Н,  $CH_3$ ), 1,32 (т, 3Н,  $CH_3CH_2$ ).

*S-(1-Этоксигтилиденаминооксиэтил)-L-цистеин (IX)*. Раствор 4,8 г (0,12 моль)  $NaOH$ , 7,02 г (0,04 моль) моногидрата гидрохлорида цистеин-



на и 8,4 г (0,04 моль) соединения (I) в 300 мл 97% водного метанола оставляли на несколько дней при 0° С. Метанол упаривали, к остатку прибавляли 100 мл H<sub>2</sub>O и экстрагировали (4×20 мл) эфиром. Водный раствор при 0° С нейтрализовали конц. соляной кислотой. Выпавший продукт отфильтровывали, после перекристаллизации из H<sub>2</sub>O получали 3,8 г (выход 33%) производного (IX), т. пл. 191° С, с разл., *R*<sub>f</sub> 0,69 (А). Найдено, %: С 43,24; Н 7,50; N 11,41. C<sub>9</sub>H<sub>18</sub>N<sub>2</sub>O<sub>4</sub>S. Вычислено, %: С 43,18; Н 7,25; N 11,19.

*S*-(1-Аминооксиэтил)-L-цистеин (IXa). Водный раствор 0,5 г (2 ммоль) соединения (IX) наносили на колонку (50 мл) с дауксом 50×8 (100—200 меш, H<sup>+</sup>-форма). Колонку промывали водой и соединение (IXa) элюировали 1 М водным аммиаком. Элюат упаривали досуха и после кристаллизации из водного этанола получали 0,25 г (выход 69,4%) производного (IXa), т. пл. 153° С, с разл., *R*<sub>f</sub> 0,38 (А). ПМР: 4,29 (т, 2H, NH<sub>2</sub>OCH<sub>2</sub>), 4,21 (т, 1H, NH<sub>2</sub>CH), 3,20 (т, 2H, CH<sub>2</sub>CH), 2,95 (т, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>S).

5'-Дезокси-5'-(1-этоксиэтилиденаминоокси-4-тиобутил)аденозин (XI) получали с количественным выходом, исходя из 2,87 г (15 ммоль) производного (X) [6] и 1,5 г (5 ммоль) 5'-дезоксидезокси-5'-хлораденозина [21] аналогично описанному для соединения (IV), *R*<sub>f</sub> 0,94 (А), 0,91 (Б).

Сернокислый 5'-дезоксидезокси-5'-(1-аминоокси-4-тиобутил)аденозин (XIa). К раствору 0,24 г (0,54 ммоль) производного (XI) в смеси 4 мл 2 н. H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и 16 мл абс. этанола прибавляли 70 мл абс. этанола и оставляли на ночь при -10° С. Выделившиеся кристаллы растирали с абс. этанолом и получали 0,25 г (выход 92%) соединения (XIa). *R*<sub>f</sub> 0,64 (А), 0,78 (Б). Найдено, %: С 33,17; Н 5,46; N 15,82. C<sub>14</sub>H<sub>22</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>S·H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>·2H<sub>2</sub>O. Вычислено, %: С 33,32; Н 5,59; N 16,66.

Подгидрат 5'-дезоксидезокси-5'-(1-этоксиэтилиденаминоокси-4-метилтиобутил)-аденозина (XII) синтезировали из 1,0 г (2,7 ммоль) соединения (XI) аналогично описанному для синтеза производного (VI). Получали 1,1 г (выход 83%) подгидрата (XII), *R*<sub>f</sub> 0,73 (Б).

Сульфат сернокислого 5'-дезоксидезокси-5'-(1-аминоокси-4-метилтиобутил)аденозина (XIIa) синтезировали из 1,05 г (1,8 ммоль) подгидрата (XII) аналогично синтезу соединения (VIa). Получали 0,81 г (выход 75%) соединения (XIIa), т. пл. 139—141° С, с разл., *R*<sub>f</sub> 0,59 (Б). Найдено, %: С 29,90; Н 5,54. C<sub>13</sub>H<sub>25</sub>N<sub>6</sub>O<sub>4</sub>S·H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>·H<sub>2</sub>O·HSO<sub>4</sub><sup>-</sup>. Вычислено, %: С 30,10; Н 5,05.

1-Этоксиэтилиденаминоокси-2-феноксиган (XIII). К смеси 20 мл 1,6 М раствора фенолята натрия в метаноле прибавляли 6,6 г (31,4 ммоль) соединения (I) и кипятили 15 ч. Раствор нейтрализовали уксусной кислотой, выливали в воду, экстрагировали CHCl<sub>3</sub> и сушили MgSO<sub>4</sub>. После двух перегонки получали 2,52 г (выход 40%) соединения (XIII), т. кип. 98° С (1 мм рт. ст.), *n*<sub>D</sub><sup>25</sup> 1,5020. Найдено, %: С 64,92; Н 7,61; N 6,29. C<sub>12</sub>H<sub>17</sub>NO<sub>3</sub>. Вычислено, %: С 64,55; Н 7,67; N 6,27.

Хлоргидрат 1-аминоокси-2-феноксигана (XIIIa). К 0,223 г (1 ммоль) соединения (XIII) в 2 мл изопропанола прибавляли 0,11 мл конц. соляной кислоты, упаривали досуха и остаток кристаллизовали из изопропанола с эфиром. Получали 0,17 г (выход 90%) хлоргидрата (XIIIa), т. пл. 176° С. Найдено, %: С 50,98; Н 6,51. C<sub>8</sub>H<sub>12</sub>ClNO<sub>2</sub>. Вычислено, %: С 50,67; Н 6,38.

Диэтиловый эфир 1-этоксиэтилиденаминооксиэтан-2-фосфоновой кислоты (XIV). Смесь 15,8 г (75 ммоль) соединения (I) и 12,5 мл (75 ммоль) триэтилфосфита нагревали 3 ч при 160—165° С. После перегонки получали 12,4 г (выход 64%) эфира (XIV), т. кип. 109—110° С (1 мм рт. ст.); *n*<sub>D</sub><sup>20</sup> 1,4420. Найдено, %: С 44,93; Н 8,39. C<sub>10</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>5</sub>P. Вычислено, %: С 44,94; Н 8,30.

Хлоргидрат диэтилового эфира 1-аминооксиэтан-2-фосфоновой кислоты (XIVa). К 0,53 г (2 ммоль) эфира (XIV) в 2 мл этанола прибавляли 2 мл 2 М раствора HCl в этаноле и 0,4 мл воды, упаривали досуха и после высушивания в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/KOH получали 0,46 г (выход 99%) хлоргидрата (XIVa) в виде густого масла: *R*<sub>f</sub> 0,74 (А). Найдено, %: С 30,75; Н 7,19; N 15,40; P 12,85. C<sub>8</sub>H<sub>17</sub>ClNO<sub>4</sub>P. Вычислено, %: С 30,84; Н 7,33;

N 15,18; P 13,26. ПМР: 4,31 и 4,14 (два т, 2H, NOCH<sub>2</sub>), 4,05 (кв, 2H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>O), 2,44 и 2,25 (два т, 2H, PCH<sub>2</sub>), 1,26 (т, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

*Дихлоргидрат 4,4'-дигиобис(1-аминооксибутана) (XVIa)*. К раствору 3,8 г (0,02 моль) соединения (X) в 11 мл метанола при 0° С прибавляли 9,0 мл 2,22 М КОН в метанол и затем при этой же температуре титровали 0,4 М раствором пода в метаноле, прибавляли 10 мл воды, метанол упаривали и остаток экстрагировали СНCl<sub>3</sub>. Хлороформ упаривали, остаток эфира (XVI) (R<sub>f</sub> 0,38 (Г)) растворяли в 15 мл изопропанола и превращали в дихлоргидрат (XVIa) добавлением 2,1 мл конц. соляной кислоты. Осадок промывали эфиром. Получали 3,06 г (выход 98%) дихлоргидрата (XVIa), разлагающегося при 104° С; R<sub>f</sub> 0,38 (Ж). Найдено, %: С 30,57; Н 6,98. C<sub>8</sub>H<sub>22</sub>Cl<sub>2</sub>N<sub>2</sub>O<sub>2</sub>S<sub>2</sub>. Вычислено, %: С 30,67; Н 7,08.

*Дихлоргидрат 2,2'-дигиобис(1-аминооксиэтана) (XVa)* получали из 3,26 г (0,02 моль) соединения (II) аналогично синтезу, описанному для дихлоргидрата (XVIa). Получали 2,2 г (выход 85%) дихлоргидрата (XVa), разлагающегося, не плавясь, при 74° С; R<sub>f</sub> 0,37 (Ж).

*1-Этоксигтилиденаминокси-2-ацетилтиозтан (XVII)*. К раствору 2,4 г (32 ммоль) тиоуксусной кислоты в 4 мл метанола последовательно прибавляли при 0° С 10 мл 3 М раствора метилата натрия в метаноле и 6,3 г (30 ммоль) соединения (I). Ампулу запаивали, нагревали на кипящей водяной бане 4 ч и нейтрализовали ледяной уксусной кислотой. Метанол отгоняли, остаток выливали в воду, экстрагировали СНCl<sub>3</sub> и сушили MgSO<sub>4</sub>. После трех перегонки получали 2,58 г (выход 43%) соединения (XV); т. кип. 85,5–86° С (1,5 мм рт. ст.), n<sub>D</sub><sup>20</sup> 1,4777. ПМР: 4,03 (т, 2H, NOCH<sub>2</sub>), 4,02 (кв, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>), 3,19 (т, 2H, CH<sub>2</sub>S), 2,28 (с, 3H, CH<sub>3</sub>CO), 1,97 (с, 3H, CH<sub>3</sub>C=), 1,30 (т, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

*Транс-1-этоксигтилиденаминокси-4-бромбутен-2 (XVIII)*. К раствору 214 г 1,4-дибромбутена-2 в 150 мл абс. диметилового эфира этиленгликоля при 0° С и перемешивании добавляли по каплям в течение 1 ч 0,5 моль раствора натриевого производного «оксинминоэфира» [7] в 150 мл смеси метанол – диметиловый эфир этиленгликоля (1 : 1) и оставляли на ночь при 0° С. Метанол и эфир отгоняли, остаток выливали в воду, масло отделяли и экстрагировали СНCl<sub>3</sub>. Масло и объединенные хлороформные вытяжки сушили MgSO<sub>4</sub>, хлороформ отгоняли и остаток растворяли в 150 мл абс. метанола. Раствор охлаждали твердым СО<sub>2</sub> и фильтровали. Из фильтра после двух перегонки получали 55 г (выход 44%) соединения (XVIII), т. кип. 94–95° С (3 мм рт. ст.), n<sub>D</sub><sup>20</sup> 1,4888. Найдено, %: С 40,70; Н 5,77. C<sub>8</sub>H<sub>14</sub>BrNO<sub>2</sub>. Вычислено, %: С 40,69; Н 5,98.

*Хлоргидрат транс-1-аминокси-4-бромбутена-2 (XVIIIa)*. а) К 0,236 г (1,0 ммоль) соединения (XVIII) в 5 мл абс. изопропанола прибавляли 0,15 мл конц. соляной кислоты, упаривали досуха и остаток кристаллизовали из изопропанола с эфиром. Получали 85 мг (выход 40%) хлоргидрата (XVIIIa); т. пл. 154–155° С (с разл.). Найдено, %: С 24,00; Н 4,60. C<sub>4</sub>H<sub>9</sub>BrClNO. Вычислено, %: С 23,73; Н 4,48. ПМР: 4,67 и 4,57 (два д, 2H, OCH<sub>2</sub>), 4,13 и 4,07 (два д, 2H, CH<sub>2</sub>Br).

б) 2,96 г (0,01 моль) соединения (XVIII) в смеси 50 мл этанола и 10 мл конц. соляной кислоты кипятили 6 ч, упаривали досуха. Остаток растворяли в воде, экстрагировали эфиром, водную фазу упаривали досуха и кристаллизовали из изопропанола с эфиром. Получали 1,16 г (выход 57%) хлоргидрата (XVIIIa); т. пл. 153–157° С. R<sub>f</sub> 0,26 (Е); 0,83 (Ж).

*Трео-1-этоксигтилиденаминокси-2,3-диокси-4-бромбутан (XIX)*. К раствору 7 г (30 ммоль) хлоргидрата (XVIII) в 250 мл этанола при –20 ÷ –18° С и перемешивании прибавляли по каплям раствор 5 г (31,5 ммоль) KMnO<sub>4</sub> и 4 г (36 ммоль) MgSO<sub>4</sub> в 100 мл воды, перемешивали до отрицательной пробы на MnO<sub>4</sub><sup>-</sup>-ион и прибавляли водный раствор бисульфита натрия до обесцвечивания. Смесь фильтровали, осадок промывали спиртом и объединенные фильтраты упаривали до начала отделения масла, экстрагировали СНCl<sub>3</sub> и сушили MgSO<sub>4</sub>. СНCl<sub>3</sub> упаривали и получали 6,4 г (выход 80%) диола (XIX). R<sub>f</sub> 0,34 (Д), 0,50 (Г). ПМР: 4,06 (д, 2H,

NOCH<sub>2</sub>), 4,01 (кв, 2Н, OCH<sub>2</sub>), 3,57 и 3,54 (два д, 2Н, CH<sub>2</sub>Br), 2,00 (с, 3Н, CH<sub>3</sub>C=), 1,33 (т, 3Н, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>).

*Хлоргидрат транс-1-аминоокси-2,3-диокси-4-меркаптобутана (XXIa)*. К смеси 24,3 мл (0,3 моль) абс. пиридина и 29,7 мл (0,3 моль) уксусного ангидрида в 20 мл абс. эфира при 0°С добавляли по каплям раствор 4,30 г (0,016 моль) соединения (XIX) в 20 мл абс. эфира и оставляли при 0°С на 3 сут. Эфир, пиридин и уксусный ангидрид отгоняли, остаток выливали в воду, нейтрализовали NaHCO<sub>3</sub> и экстрагировали СНCl<sub>3</sub>. После высушивания MgSO<sub>4</sub> и перегонки получали 4,2 г (выход 83%) соединения (XX), т. кип. 118–120°С (0,1 мм рт. ст.), *R<sub>f</sub>* 0,75 (Г).

К 3,2 г (9,5 ммоль) соединения (XX) в 2 мл абс. метанола прибавляли раствор тиоацетата натрия (0,72 г (9,5 ммоль) тиоуксусной кислоты, 0,22 г (9,5 ммоль) натрия в 3,5 мл метанола) и нагревали 4 ч в запаянной ампуле на кипящей водяной бане. Раствор выливали в воду, экстрагировали эфиром и сушили MgSO<sub>4</sub>. После перегонки получали 2,0 г (выход 60%) вещества с т. кип. 125–128°С (0,1 мм рт. ст.). Дальнейшую очистку продукта проводили на колонке (7×10 см) с силикагелем 40/100 мкм (Chemapol, ЧССР), проводя элюцию бензолом, а затем смесью этилацетат – бензол, 1:4. После отгонки растворителя получали гомогенное по ТСХ соединение (XXI), *R<sub>f</sub>* 0,71 (Е). К соединению (XXI) прибавляли 5 мл метанола, 0,1 мл воды и 1 мл 10 М раствора HCl в метаноле, оставляли на 2 сут при 20°С и упаривали досуха. Остаток высушивали над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>/KOH и получали 0,75 г (выход 70%, считая на неочищенное соединение (XXI)) хлоргидрата (XXIa) в виде густого масла, *R<sub>f</sub>* 0,18 (Г) (ацетоксим хлоргидрата (XXIa) имеет *R<sub>f</sub>* 0,50 (Г)). Сульфгидрильную группу количественно определяли с реактивом Элмана [18] и *n*-хлор-меркур-*o*-нитрофенолом [19], а аминооксигруппу – реакцией с пиридоксаль-5'-фосфатом [22].

*Транс-1-этоксигептиленаминоокси-4-меркаптобутен-2 (XXII)*. К насыщенному сероводородом при 0°С 2,22 М раствору KOH (17,5 мл) в метаноле медленно прибавляли, не прекращая тока сероводорода, раствор 8,2 г (3,5 ммоль) соединения (XVIII) в 5 мл метанола, пропускали сероводород еще 0,5 ч и оставляли на ночь в плотно закрытой колбе при 20°С. Метанол отгоняли, продукт выливали в воду, экстрагировали хлороформом и сушили MgSO<sub>4</sub>. После двух перегонки получали 3,2 г (выход 57%) соединения (XXII); т. кип. 70–72°С (0,12–0,13 мм рт. ст.), *n<sub>D</sub><sup>20</sup>* 1,4873, *R<sub>f</sub>* 0,78 (Д). Найдено, %: С 50,99; Н 7,88. C<sub>8</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>S. Вычислено, %: С 50,77; Н 7,99.

*Хлоргидрат транс-1-аминоокси-4-меркаптобутена-2 (XXIIa)*. а) К 0,57 г (3 ммоль) соединения (XXII) в 10 мл абс. изопропанола прибавляли 0,3 мл конц. соляной кислоты и упаривали досуха. Остаток кристаллизовали из абс. изопропанола с эфиром и получали 0,39 г (выход 83%) хлоргидрата (XXIIa); т. пл. 147–149°С. Найдено, %: С 31,00; Н 6,42. C<sub>8</sub>H<sub>10</sub>ClNOS. Вычислено, %: С 30,86; Н 6,48.

б) Суспензию 2,54 г (7,5 ммоль) соединения (XXIV) в 40 мл воды и 2,4 мл конц. соляной кислоты нагревали 10–15 мин при 50°С, охлаждали и фильтровали. Получали 1,62 г (выход 86%) 1-(*N*-оксифталимидо)-4-меркаптобутена-2, *R<sub>f</sub>* 0,69 (Е). 1,6 г (6,4 ммоль) 1-(*N*-оксифталимидо)-4-меркаптобутена-2 в 10 мл ледяной уксусной кислоты и 5 мл конц. соляной кислоты нагревали 1,5 ч в токе аргона, охлаждали и фильтровали. Фильтрат упаривали досуха, растворяли в воде, фильтровали, упаривали досуха и остаток кристаллизовали из изопропанола с эфиром. Получали 0,57 г (выход 57%) хлоргидрата (XXIIa).

*Транс-1-(N-оксифталимидо)-4-бромбутен-2 (XXIII)*. К раствору 130 г (0,6 моль) транс-1,4-дибромбутена-2 в 140 мл абс. диметилформамида при 5–7°С добавляли по каплям раствор 32 г (0,2 моль) *N*-оксифталимида [23] и 29 мл (0,22 моль) триэтиламина в 60 мл абс. диметилформамида. Перемешивали 1 ч при 20°С, фильтровали. Фильтрат упаривали досуха, растворяли в 200 мл кипящего абс. этанола, фильтровали горячим через целит Super-Cell (Zohns-Manville, США), добавляли 50–60 мл воды, охлаждали и осадок отфильтровывали. После перекристаллизации из CCl<sub>4</sub>

получали 40,4 г (выход 68%) соединения (XXIII), т. пл. 103–104° С,  $R_f$  0,88 (Г). Найдено, %: С 48,99; Н 3,61; Вг 26,30; N 4,48.  $C_{12}H_{10}BrNO_2$ . Вычислено, %: С 48,68; Н 3,39; Вг 26,99; N 4,73.

*Транс-1-(N-оксифталимидо)-4-(диглийтиофосфат)-бутен-2* (XXIV). К 2,31 г (0,01 моль)  $Li_2PO_3 \cdot 5,5H_2O$  в 20 мл воды прибавляли раствор 2,96 г (0,01 моль) соединения (XXIII) в 20 мл диметилформамида и перемешивали 1 ч при 40° С, прибавляли 200 мл воды, размешивали до почти полного растворения и фильтровали. Фильтрат упаривали до 20 мл и после прибавления 100 мл смеси этанол – эфир (1 : 1) получали 2,54 г (выход 77%) соединения (XXIV)  $R_f$  0,16 (А).

*Метилловый эфир 3-этоксипропилен-2-меркаптопропионовой кислоты* (XXV). К раствору 7,0 г КОН в 50 мл метанола, насыщенному сероводородом, при 0° С прибавляли, не прекращая тока сероводорода, 26,8 г (0,1 моль) метилового эфира  $\beta$ -этоксипропиленаминоокси- $\alpha$ -бромпропионовой кислоты [8]. Пропускали сероводород еще 0,5 ч и оставляли на ночь в плотно закрытой колбе при 20° С. Метанол отгоняли, остаток выливали в воду, экстрагировали хлороформом и сушили  $MgSO_4$ . После двух перегонки получали 7,4 г (выход 36%) метилового эфира (XXV); т. кип. 89–89,5° С (0,5 мм рт. ст.),  $n_D^{25}$  1,4623. Найдено, %: 43,77; Н 7,03.  $C_8H_{15}NO_4S$ . Вычислено, %: С 43,42; Н 7,03.

*3-Аминоокси-2-меркаптопропионовая кислота* (XXVa). К раствору 2,05 г (0,01 моль) метилового эфира (XXV) в 5 мл метанола, содержащего каплю раствора фенолфталеина, прибавляли при 30° С по каплям 10 М NaOH в воде до устойчивой окраски. Охлаждали до –10° С и подкисляли при этой температуре 10% HCl по конго. Холодный раствор быстро экстрагировали хлористым метиленом, фильтровали холодным через  $MgSO_4$  и упаривали досуха. Остаток растворяли в изопропанол, прибавляли 1 мл конц. соляной кислоты, упаривали досуха и высушивали в вакууме над  $P_2O_5$ /KOH. Получали 1,0 г (выход 54%) хлоргидрата (XXVa) в виде густого масла,  $R_f$  0,35 (А). Кристаллический тозилат (XXVa) имеет т. пл. 144° С, изопропанол – эфир (с разл.). ПМР: 4,37 (д, 2H,  $CH_2$ ), 3,83 (т, 1H, CH).

*Введение сульфгидрильных групп в тРНК (А) и по 3'-окисленной концевой рибозе тРНК (В).* а)  $2,5 \cdot 10^{-4}$  М тРНК<sup>2</sup> *E. coli* (165 ОЕ<sub>260</sub>/мл) и 0,82 М аминоксигитотреит (XXIa) инкубировали 16 ч при 37° С и рН 5,0, затем диализовали против 1 мМ EDTA, 50 мМ NaCl при 4° С, меняя диализат каждые 12 ч. Сульфгидрильные группы определяли реактивом Эллмана (1) и *n*-хлормеркур-*o*-нитрофенолом (2). В контроле реакционную смесь диализовали непосредственно после приготовления.

б)  $5 \cdot 10^{-4}$  М тРНК<sup>2</sup><sub>окисл</sub> *E. coli* (330 ОЕ/мл) и  $3,5 \cdot 10^{-3}$  М хлоргидрат 1-аминоокси-4-меркаптобутана (Ха) в 0,1 М Na-ацетатном буфере (рН 5,0) инкубировали 2 ч при 20° С и затем диализовали по способу «а». В контроле использовали тРНК<sup>2</sup> вместо тРНК<sup>2</sup><sub>окисл</sub>.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Сащенко Л. П., Северин Е. С., Хомутов Р. М. Биохимия, 1968, т. 33, № 1, с. 142–147.
2. Sastchenko L. P., Severin E. S., Metzler D. E., Khomutov R. M. Biochemistry, 1971, v. 10, № 26, p. 4888–4894.
3. Reid J. D., Shepherd D. M. Life Sci., 1963, v. 2, № 1, p. 5–8.
4. Bauer L., Suresh K. S. J. Org. Chem., 1963, v. 28, № 6, p. 1604–1608.
5. Bauer L., Suresh K. S., Ghosh B. K. J. Org. Chem., 1965, v. 30, № 3, p. 949–951.
6. Недоспасов А. А., Хомутов Р. М. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1976, № 9, с. 2113–2115.
7. Хомутов Р. М., Северин Е. С., Гнуцев Н. В., Деревяник Т. Я. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1967, № 8, с. 1820–1823.
8. Хомутов Р. М. Журн. общ. химии, 1961, т. 31, с. 1992–1995.
9. Карнейский М. Я., Хомутов Р. М., Северин Е. С. Журн. общ. химии, 1962, т. 32, с. 1357–1358.
10. Хомутов Р. М., Карнейский М. Я., Северин Е. С. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1964, № 4, с. 680–685.
11. Хомутов Р. М., Северин Е. С., Карнейский М. Я. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1964, № 5, с. 890–893.
12. Недоспасов А. А., Хомутов Р. М. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1978, № 10, с. 2397–2399.

13. Хомутов Р. М., Хомутов А. Р. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1985, № 11, с. 2649–2650.
14. Хомутов А. Р., Хомутов Р. М. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1986, № 5, с. 1202–1204.
15. Артамонова Е. Ю., Завалова Л. Л., Хомутов Р. М., Хомутов А. Р. Биоорган. химия, 1986, т. 12, № 2, с. 206–212.
16. Oh K.-J., Churchich J. E. J. Biol. Chem., 1973, v. 248, № 21, p. 7370–7375.
17. Борисова С. Н., Строкопытов Б. В., Борисов В. В., Хурс Е. Н., Хомутов А. Р., Карпейский М. Я., Хомутов Р. М. VI Всес. симпозиум по химии белков и пептидов. Тез. докл. Рига, 1983, с. 27–28.
18. Ellman G. H. Arch. Biochem. and Biophys., 1959, v. 82, № 1, p. 70–77.
19. McMurray C. H., Trencham D. R. Biochem. J., 1969, v. 115, № 5, p. 913–921.
20. Khomutov A. R., Artamonova E. Yu., Zavalova L. L., Kritsky A. M., Denisova G. F., Goryachenkova E. V., Khomutov R. M. Abstr. of the III Internat. Conference of Chemistry and Biotechnology of Biologically Active Natural Products, 1985, Bulgaria, Sofia, v. 4, p. 214–218.
21. Kikugawa K., Ichino M. Tetrahedron Lett., 1971, № 2, p. 87–90.
22. Korpele T. K., Mäkelä M. J. Anal. Biochem., 1981, v. 110, № 2, p. 251–258.
23. Физер Л., Физер М. Реагенты для органического синтеза. Т. 3. М.: Мир, 1970, с. 72.

Поступила в редакцию  
24.III.1986

## SULPHUR-CONTAINING O-SUBSTITUTED HYDROXYLAMINES FOR INHIBITION OF ENZYMES AND MODIFICATION OF NUCLEIC ACIDS

KHO MUTOV A. R., KHO MUTOV R. M.\*

*N. D. Zelinsky Institute of Organic Chemistry: \*Institute of  
Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

Preparative procedures and methods of synthesis of some previously unknown sulphonyl-, sulphonium- and sulphhydryl-containing O-substituted hydroxylamines have been developed. The stability of O-substituted ethoxy-acetohydroxymates is demonstrated under Vagner's conditions of C–C-bond oxidation, in the oxidation of sulphides into sulphones, or thiols into disulphides. Results of experiments on the specific inhibition of enzymes by the above polyfunctional O-substituted hydroxylamines and their application for nucleic acid modification are discussed.