



УДК 547.854.4'27.057

РЕГИОСПЕЦИФИЧНОСТЬ МЕТИЛТИОМЕТИЛИРОВАНИЯ  
НУКЛЕИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ РЯДА УРАЦИЛА  
В УСЛОВИЯХ СИЛИЛЬНОГО МЕТОДА СИНТЕЗА НУКЛЕОЗИДОВ© 1997 г. С. Г. Завгородний<sup>#</sup>, А. А. Малышев, И. Д. Константинова,  
С. А. Кузнецов\*, А. И. МирошниковИнститут биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
117871, Москва, ГСП-7, ул. Миклухо-Маклая, 16/10;\*Филиал Института биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова РАН,  
Пушино-на-Оке

Поступило в редакцию 7.02.97 г. Принято к печати 1.04.97 г.

Показано, что метилтиометилирование урацила, тимина, 5-фтор- и 6-метилурацила в условиях силильного метода синтеза нуклеозидов метилтиометилхлоридом или метилтиометилацетатом в присутствии триметилсилилтрифлата позволяет получать почти исключительно N1-производные, тогда как использование SnCl<sub>4</sub> в качестве катализатора приводит к образованию смесей N1- и N3-изомеров.

*Ключевые слова:* нуклеиновые основания, нуклеозидов аналоги, метилтиометильная группа, силильный метод синтеза нуклеозидов, региоспецифичность.

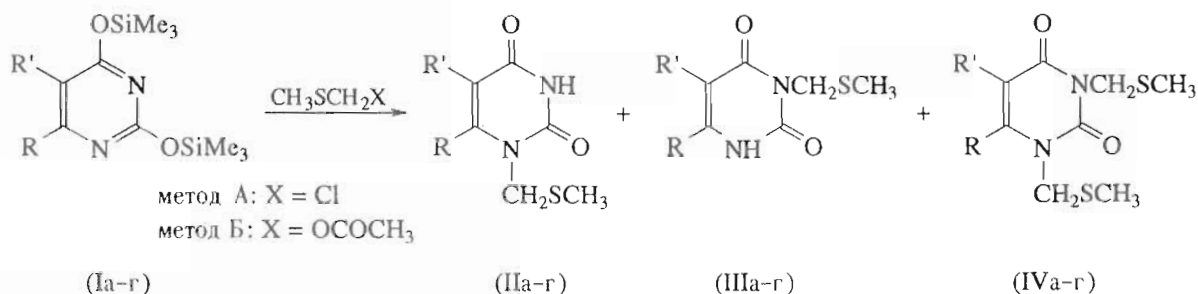
Аналоги нуклеозидов, содержащие вместо O4'-атома серу, – предмет многочисленных исследований последних лет в связи с обнаружением у ряда таких производных противовирусной активности [1, 2].

Рассматриваемые соединения относятся к тому же самому классу N,X-ацеталей, что и природные нуклеозиды, и сравнение закономерностей синтеза N,O- и N,S-производных представляет самостоятельный интерес.

Настоящая работа посвящена изучению региоспецифичности метилтиометилирования пиримидиновых оснований ряда урацила. С учетом проведенных нами ранее исследований по свойствам O'-метилтиометильных производных нуклеози-

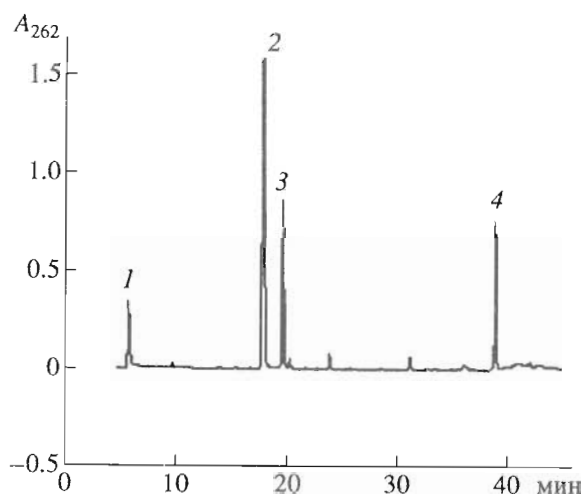
дов [3] и немногочисленных работ по свойствам N-алкилтиоалкильных производных нуклеиновых оснований [4, 5] такие соединения кажутся перспективными для синтеза ациклических аналогов нуклеозидов, среди которых имеется ряд хорошо известных противовирусных агентов (см. обзор [6]).

Основным методом синтеза нуклеозидов и их аналогов ацетального типа в данное время является силильный метод, заключающийся во взаимодействии персилилированных нуклеиновых оснований с α-галогеналкилэфирами (для N,S-ацеталей – с α-галогеналкилсульфидами) (метод А) или с α-ацилоксиалкилэфирами (соответственно с α-ацилоксиалкилсульфидами) (метод Б) в присутствии кислот Льюиса.



- а) R = R' = H            в) R = H, R' = F  
б) R = H, R' = CH<sub>3</sub>   г) R = CH<sub>3</sub>, R' = H

<sup>#</sup>Автор для переписки.



Анализ методом ВЭЖХ реакционной смеси при метилтиометилировании урацила с использованием метилтиометилацетата и  $\text{SnCl}_4$ . Режим градиентной элюции, раствор А – 0.1 М  $\text{KH}_2\text{PO}_4$  (рН 5.35), раствор Б – 75%  $\text{CH}_3\text{CN}$ , градиент концентрации Б 0–35% за 35 мин и 35–100% за 5 мин, скорость потока 1 мл/мин. Пик 1 соответствует урацилу, пики 2–4 – соединениям (IIa)–(IVa).

Нами установлено, что взаимодействие оснований (Ia–г) в условиях силильного метода с метилтиометилхлоридом в присутствии  $\text{HgO}$  приводит к образованию N1-замещенных (IIa–г). Примеси N3-производных (IIIa–г) незначительны, но образуются заметные количества N1, N3-дизамещенных продуктов (IVa–г). Преимущественное образование N1-производных в сходных условиях было ранее зафиксировано при алкилировании нуклеиновых оснований  $\alpha$ -галоидалкилсульфидами, полученными как из аль-форм сахаров [7, 8], так и из тиофураноз [2, 9].

Применение триметилсилилтрифторметансульфоната и метилтиометилацетата в условиях силильного метода также приводит к подавляющему образованию N1-изомеров (IIa–г), причем примеси биспроизводных практически отсутствуют. Этот факт коррелирует с обширными литературными данными по синтезу 4-тиоаналогов 2'-дезоксинуклеозидов [1, 10, 11] ряда уридина в родственных условиях.

Напротив, следствием применения  $\text{SnCl}_4$  вместо триметилсилилтрифлата в условиях силильного метода является образование смесей N1- и N3-производных ((IIa–г) и (IIIa–г) соответственно), причем соотношение изомеров варьирует от ~2 : 1 для урацила до преобладания N3-замещенных – небольшого для 5-фторурацила и тимина и подавляющего для 6-метилурацила. Аналогичный результат был получен в подобных условиях Мак-Кормик и Мак-Элхинни при синтезе как ациклических [4], так и циклических [12] тиоаналогов

нуклеозидов. (Отметим, однако, что полученная нами зависимость соотношения N1- и N3-изомеров от природы нуклеинового основания противоположна данным работы [4].) В то же время для тиоаналогов циклических форм 2'-дезоксисахаров были получены N1-изомеры [13]; Линн и Келли [5] также в подобных условиях получили N1-толилтиоалкильные производные тимина.

Во всех случаях синтез проводился нами в 1,2-дихлорэтаноле при комнатной температуре с использованием 10%-ного избытка как персиллированного основания, так и катализатора по отношению к алкилирующему агенту.

Реакционные смеси анализировали с помощью обращенно-фазовой ВЭЖХ (хроматограф System Gold (Beckman, США) с программируемым насосом Module 126 и УФ-детектором Module 166, инжектором Rheodyne 7125; объем петли 50 мкл, колонка (4.6 × 250 мм) с Altex Ultrasphere ODS (5 мкм), снабженная предколонкой (4.6 × 45 мм) с тем же сорбентом). На рисунке приведен типичный профиль элюции при анализе реакционной смеси метилтиометилирования нуклеиновых оснований ряда урацила в условиях метода Б с применением  $\text{SnCl}_4$  в качестве катализатора. Времена удерживания соединений (IIa–г) – 17.39; 23.42; 20.03; 24.33 мин, а соединений (IIIa–г) – 19.20; 24.71; 22.34; 22.58 мин соответственно.

Продукты реакции выделяли хроматографией на колонках с силикагелем и перекристаллизацией. Строение полученных соединений подтверждали с помощью УФ-,  $^1\text{H}$ -ЯМР- и масс-спектрокопии.

Место введения заместителя устанавливали по наличию (для N3-) или отсутствию (для N1-производных) bathochromного сдвига максимума поглощения в УФ-спектрах при переходе от нейтральной к щелочной среде (аналогично работе [12]). Так, например, если для сульфида (IIб) при переходе от рН 7 до рН 13 положение максимума поглощения постоянно (271 нм), то для сульфида (IIIб) наблюдается смещение от 267 к 296 нм.

Положение сигналов протонов метилтиометильной группы в  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектрах соединений (IIa–г)–(IIIa–г) достаточно консервативно, однако можно отметить, что для N1-изомеров (IIa–г) обычно эти сигналы лежат в более слабом поле. Здесь приведены для сравнения данные спектров изомеров (IIб) и (IIIб) в  $\text{C}^2\text{HCl}_3$  (δ, м. д.): 7.10 и 7.09 (H6), 5.05 и 5.05 (NCH<sub>2</sub>S), 2.31 и 2.25 (SCH<sub>3</sub>), 1.95 и 1.99 (5-CH<sub>3</sub>) соответственно.

Масс-спектры (электронный удар) характеризуются присутствием интенсивных пиков молекулярных ионов. Как и следовало ожидать, основным путем фрагментации является образование ионов  $(M-\text{SCH}_3)^+$ , ионы  $(M-\text{CH}_3)^+$  и  $(M-\text{CH}_2\text{SCH}_3)^+$  малоинтенсивны.

Полученные результаты позволяют сделать следующие предположения. Учитывая, что для производных формальдегида по сравнению с последующими членами гомологического ряда образование катионов типа  $RX-CH_2^+$  вообще более затруднено (ср. работу [14] и ссылки в ней), видимо, в условиях метода А мы имеем дело с реакцией  $S_N2$ -типа, приводящей к региоселективности. То же самое, вероятно, имеет место и в условиях метода Б при использовании мягкой кислоты Льюиса – триметилсилилтрифлата – и с практически теми же синтетическими последствиями. Если же в условиях метода Б применяется более сильная кислота Льюиса –  $SnCl_4$ , – механизм реакции значительно, если не полностью, смещается в  $S_N1$ -область и образование достаточно высокоэнергетического катиона приводит к потере региоселективности.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Secrist J.A., Tiwari K.N., Riordan J.M., Montgomery J.A. // J. Med. Chem. 1991. V. 34. P. 2361–2366.*
2. *Dyson M.R., Coe P.L., Walker R.T. // J. Med. Chem. 1991. V. 34. P. 2782–2786.*
3. *Zavgorodny S., Polianski M., Besidsky E., Kriukov V., Sanin A., Pokrovskaya M., Gurskaya G., Lönnberg H., Azhayev A. // Tetrahedron Lett. 1991. V. 32. P. 7593–7596.*
4. *McCormick J.E., McElhinney R.S. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 1985. P. 93–100.*
5. *Linn J.A., Kelley J.L. // Nucleosides Nucleotides. 1993. V. 12. P. 199–213.*
6. *Мухайлов С.Н. // Биоорганич. химия. 1992. Т. 18. С. 1033–1066.*
7. *Horton D., Kokrady S.S. // Carbohydr. Res. 1980. V. 80. P. 364–374.*
8. *Horton D., Markovs R.A. // Carbohydr. Res. 1980. V. 80. P. 263–275.*
9. *Bobek M., Bloch A., Parthasarathy R., Whistler R.L. // J. Med. Chem. 1975. V. 18. P. 784–787.*
10. *Secrist J.A., Parker W.B., Tiwari K.N., Messini L., Shadix S.C., Rose L.M., Benneth L.L., Montgomery J.A. // Nucleosides Nucleotides. 1995. V. 14. P. 675–686.*
11. *Bednarski K., Dixit D.M., Wang W., Evans C.A., Jin H., Yuen L., Mansour T.S., Knight D.J., Walcott S.M., Coates J.A.V. // BioMed. Chem. Lett. 1994. V. 4. P. 2667–2672.*
12. *McCormick J.E., McElhinney R.S. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1. 1978. P. 500–505.*
13. *Tber B., Fahmi N., Ronco G., Mackenzie G., Villa P., Ville G. // Coll. Czech. Chem. Commun. 1993. V. 58. Spec. Issue. P. 18–21.*
14. *Кочеткова С.В., Хорлин А.А., Смирнов И.П., Щавелева И.Л., Цилевич Т.Л., Гомтих Б.П., Флорентьев В.Л. // Биоорганич. химия. 1989. Т. 15. С. 133–135.*

## Regiospecificity of Methylthiomethylation of Nucleic Bases of the Uracil Series in the Synthesis of Nucleosides by the Silyl Method

S. G. Zavgorodnii\*, A. A. Malyshev\*, I. D. Konstantinova\*, S.A. Kuznetsov\*\*, and A. I. Miroshnikov\*

\* *Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Russian Academy of Sciences, ul. Miklukho-Maklaya 16/10, GSP-7 Moscow, 117871 Russia*

\*\* *Shemyakin–Ovchinnikov Institute of Bioorganic Chemistry, Pushchino Branch, Russian Academy of Sciences, Pushchino, Moscow oblast, 142292 Russia*

**Abstract**—It was shown that methylthiomethylation of uracil and its 5-methyl, 5-fluoro, and 6-methyl derivatives by methylthiomethyl chloride or methylthiomethyl acetate under conditions of the silyl method of nucleoside synthesis in the presence of trimethylsilyl triflate preferentially yields N1-derivatives. The use of  $SnCl_4$  as a catalyst leads to mixtures of N1- and N3-isomers.

**Key words:** nucleic bases; nucleoside analogues; methylthiomethyl group; nucleoside synthesis, silyl method; regiospecificity