



УДК 547.854

ДИСАХАРИДНЫЕ НУКЛЕОЗИДЫ. СИНТЕЗ ПИРИМИДИНОВЫХ 5'-O-β-D-РИБОФУРАНОЗИЛРИБО- И -2'-ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОЗИДОВ*

© 1999 г. А. А. Родионов, Е. В. Ефимцева[#], М. В. Фомичева, Н. Ш. Падюкова, С. Н. Михайлов

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН,
117984, Москва, ул. Вавилова, 32

Поступила в редакцию 07.04.98 г. Принята к печати 19.08.98 г.

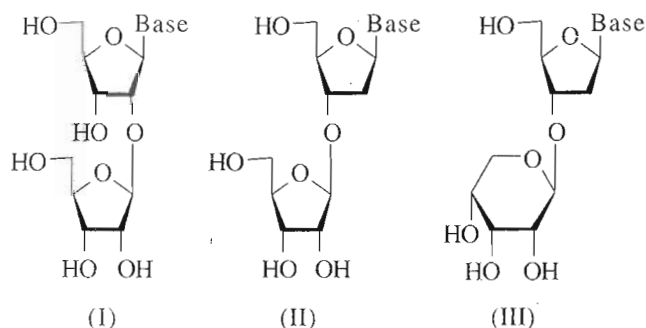
Разработан удобный метод синтеза пиримидиновых 5'-O-β-D-рибофуранозилнуклеозидов из 2',3'-ди-O-ацилрибонуклеозидов и 3'-O-трет-бутилдифенилсилил-2'-дезоксирибонуклеозидов. Изучена устойчивость различных защитных групп в условиях реакции O-гликозилирования. Структура полученных дисахаридных нуклеозидов доказана с помощью ЯМР-спектроскопии.

Ключевые слова: нуклеозиды, дисахаридные; O-гликозилирование, стереоспецифичность; защитные группы, устойчивость; спектроскопия ЯМР.

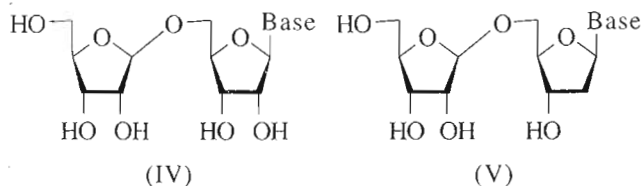
Важным структурным элементом многих биологически активных нуклеозидных антибиотиков являются дисахаридные нуклеозиды [2, 3]. В последние годы новые минорные нуклеозиды были выделены из дрожжевых тРНК [4]. Недавно была окончательно доказана их структура. Это оказались производные 9-(2'-O-β-D-рибофуранозил-β-D-рибофуранозил)аденина (Iг) и гуанина (Iд) (см. ниже) [5, 6]. Дисахаридные производные нуклеозидов изучены недостаточно хорошо, что объясняется отсутствием простых и эффективных методов синтеза. В литературе описаны два пути получения таких соединений [3]. Синтез дисахаридных нуклеозидов может быть осуществлен конденсацией соответственно защищенного дисахарида с нуклеиновым основанием (схема 1а) или реакцией нуклеозида с моносахаридом (схема 1б). Большинство нуклеозидных антибиотиков были синтезированы по первому пути [3]. Эта схема синтеза достаточно длинна. Если в составе природного соединения имеется остаток нуклеозида, то схема получения может быть существенно сокращена. В литературе известны несколько примеров образования O-гликозидной связи из частично защищенного нуклеозида и моносахарида. Однако выходы подобных реакций не превышали 20–30% из-за образования ряда побочных продуктов [3].

Недавно был разработан общий метод [7–9] получения 2'-O-β-D-рибофуранозилнуклеозидов (Iа)–(Iд). Этот подход был также использован для синтеза производных пиримидиновых 2'-дезоксирибонуклеозидов (IIа), (IIб) [10] и в дальнейшем распространен на получение O-пентапиранозилнук-

леозидов типа (IIIа) [10]. Метод [10] заключается в конденсации активированной четыреххлористым оловом 1-O-ацетил-2,3,5-три-O-бензоил-β-D-рибофуранозы с частично защищенными рибо- или 2'-дезоксирибонуклеозидами. В отличие от предыдущих синтезов выход дисахаридных нуклеозидов на стадии конденсации составлял 70–80% и реакция протекала стереоспецифично с образованием β-аномеров. Для дальнейшего изучения возможностей и ограничений реакции O-гликозилирования нами был предпринят синтез новых 5'-O-β-D-рибофуранозилнуклеозидов (IV), (V) из N,2',3'-O-защищенных рибонуклеозидов и N,3'-O-защищенных 2'-дезоксирибонуклеозидов.



Base = Thy (а), Ura (б), Cyt (в), Ade (г), Gua (д)



Base = Ura (а), Cyt (б) Base = Thy (а), Cyt (б)

* Краткое сообщение см. [1].

Автор для переписки.

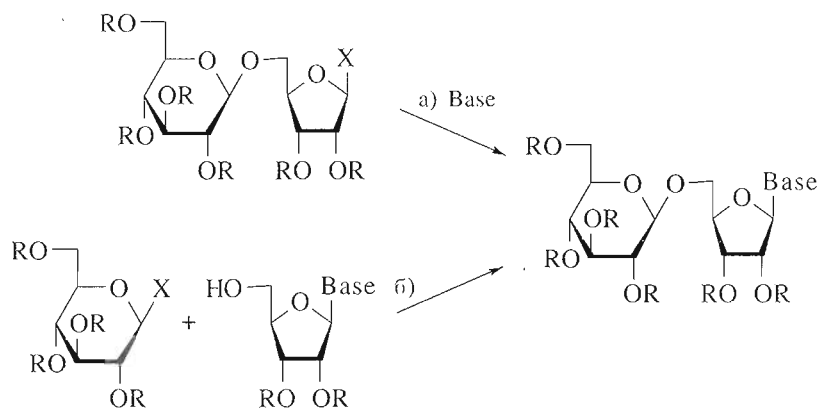


Схема 1.

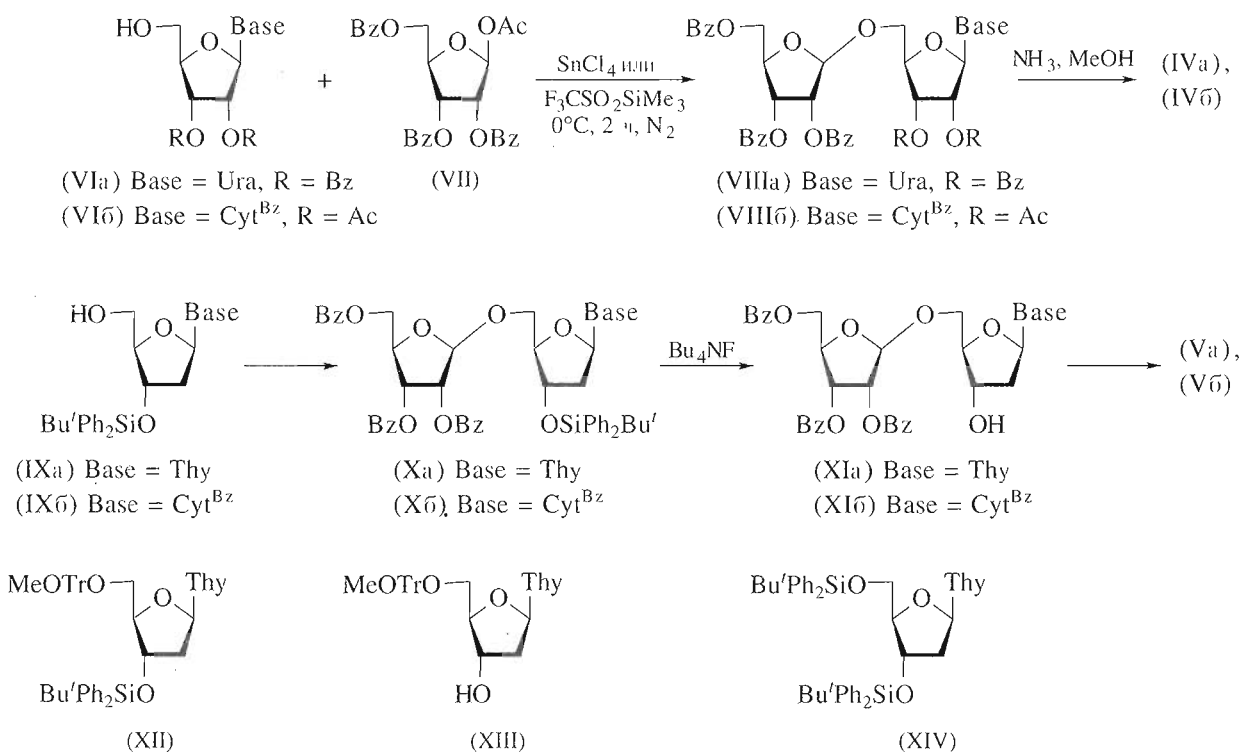
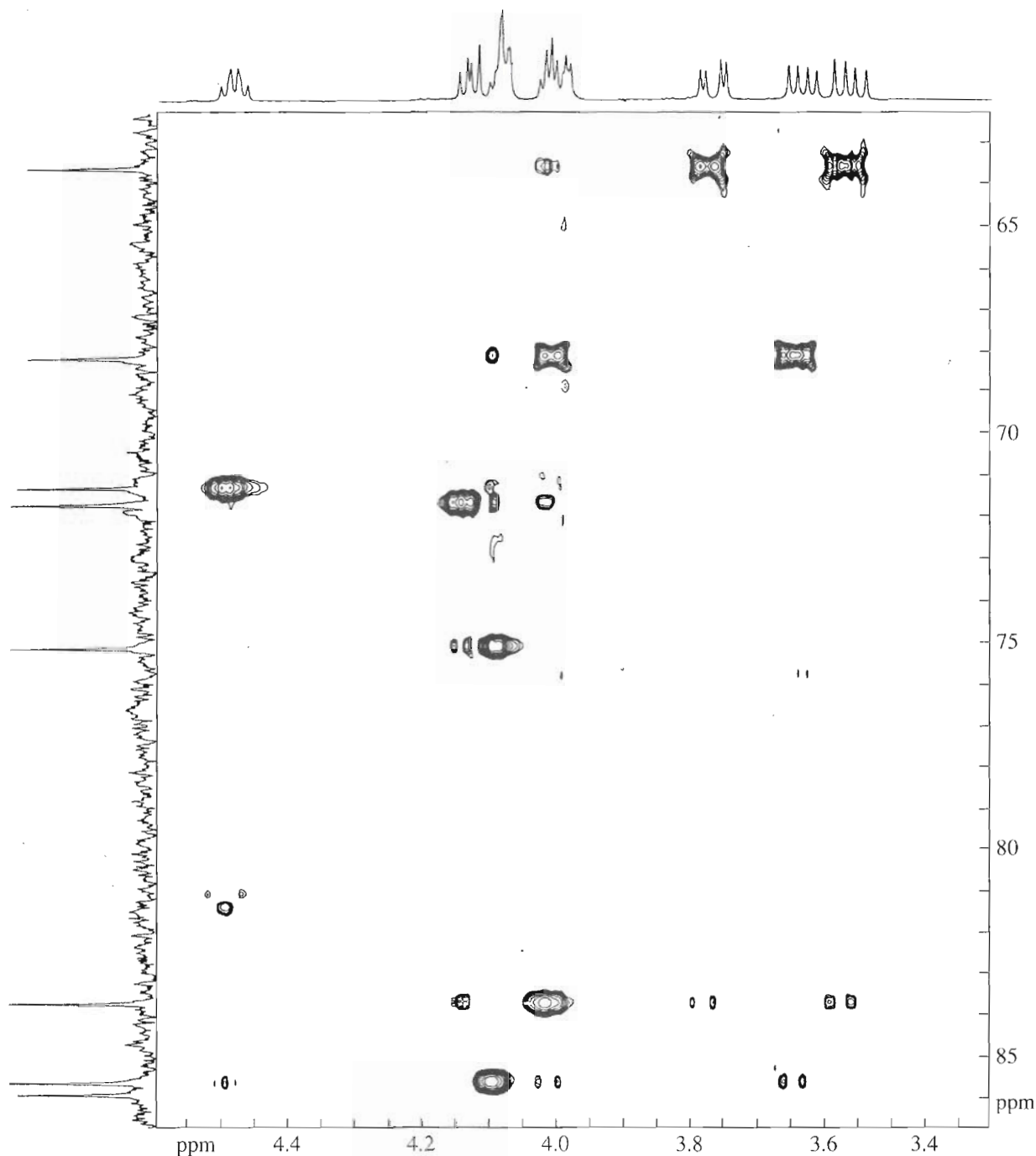


Схема 2.

Исходные соединения, 2',3'-ди-*O*-ацилнуклеозиды (VI) (схема 2), получали по известным методикам [11]. Их конденсация с 1-*O*-ацетил-2,3,5-три-*O*-бензоил-β-*D*-рибофуранозой (VII) в ранее разработанных условиях [8–10] (SnCl₄, сухой 1,2-дихлорэтан, 0°C в атмосфере азота) приводила к образованию дисахаридов (VIIIa,б) с выходом 74–78%. Было показано также, что триметилсилилтрифлат может быть использован в данной реакции вместо тетраоксида олова. Дальнейшая обработка этих соединений аммиаком в метаноле приводила к свободным дисахаридным нуклеозидам (IVa,б) с высоким выходом. УФ-спектры полу-

ченных дисахаридных нуклеозидов (IVa), (IVб) соответствовали спектрам уридина и цитидина.

Синтез 5'-*O*-β-*D*-рибофуранозил-2'-дезоксинуклеозидов (Va,б) был осуществлен аналогично из легко доступных силильных производных (IXa,б), которые получали по стандартным методикам в три стадии (мометокситритилирование, силилирование и детритилирование) из тимидина и *N*⁴-бензоил-2'-дезоксцитидина [12]. Полностью защищенные дисахариды (Xa,б) селективно десилилировали с помощью тетрабутиламмонийфторида. Последующая обработка частично защищенных нуклеозидов (XIa,б) аммиа-

Спектр ^1H - ^{13}C -корреляции соединения (Va) в D_2O при 300 К.

ком в метаноле приводила к свободным дисахаридным нуклеозидам (Va,б) с высоким выходом. УФ-спектры полученных нуклеозидов (Va), (Vб) соответствовали спектрам тимидина и 2'-дезокситидина.

Следует отметить, что во всех случаях реакция гликозирования протекала стереоспецифично с образованием β -гликозидной связи. ЯМР-спектры дисахаридных нуклеозидов (IV), (V), (VIII),

(X), (XI) достаточно сложны, что обусловлено наличием двух рибофуранозных остатков, и их анализ показал, что константа спин-спинового взаимодействия $J_{1''2''}$ дополнительного рибофуранозного остатка близка к нулю. Химические сдвиги протонов H1'', H2'' и H3'' рибозного остатка и H1' и H2' нуклеозидного остатка и соответствующие константы спин-спинового взаимодействия могут быть рассчитаны непосредственно из ЯМР-спек-

тров. Отнесение сигналов остальных протонов было осуществлено при сравнении с данными ЯМР-спектров родственных рибофуранозидов и нуклеозидов [9, 10]. Анализ ^{13}C -ЯМР-спектров проводили аналогично. Для дисахаридных нуклеозидов характерен слабополюный сдвиг сигнала $\text{C}1''$ дополнительного рибозного остатка в область 105–106 м. д. [9, 10]. Кроме этого, в случае соединений (Va) и (VIIIб) отнесение сигналов было проведено с помощью спектров ^1H - ^{13}C -корреляции (рисунок).

Для упрощения предложенной схемы синтеза 5'-*O*- β -*D*-рибофуранозилнуклеозидов нами была изучена устойчивость защитных групп в условиях реакции *O*-гликозилирования на примере производных тимидина (XII)–(XIV). Во-первых, было показано, что соединение (Xa) может быть получено с выходом 84% непосредственно из 5'-*O*-мометокситритильного производного (XII). Известно, что тритильные защитные группы нестабильны в присутствии кислот Льюиса [11, 13]. Использование 5'-*O*-мометокситритилтимидина (XIII) в качестве исходного соединения в реакции *O*-гликозилирования приводило в основном к 5'-*O*- β -*D*-рибофуранозильному производному (XIa) с выходом 38% и небольшому количеству синтезированного ранее [10] 3'-*O*-(2,3,5-три-*O*-бензоил- β -*D*-рибофуранозил)тимидина (5%). Эти примеры наглядно демонстрируют возможность использования тритильной группы для временной защиты 5'-гидроксильной группы в исходных нуклеозидах.

Ранее нами было показано, что *трет*-бутилдифенилсилильная группа является достаточно лабильной в ходе реакции гликозилирования [10]. Мы решили использовать это ее свойство для селективного *O*-рибозилирования. Конденсация бис-*трет*-бутилдифенилсилильного производного (XIV) с сахаром (VII) в присутствии четыреххлористого олова протекала медленно при комнатной температуре (16 ч), выход продукта (Xa) составил 46%. Замена катализатора на триметилсилилтрифлат в тех же условиях позволила увеличить выход дисахарида (Xa) до 76%. При этом образования побочных продуктов (в частности 3'-*O*-рибофуранозильного производного) в заметных количествах не наблюдалось. Полученный результат согласуется с данными о селективном кислотном гидролизе силильной группы, защищающей первичную 5'-гидроксильную группу в нуклеозидах [14].

Эти примеры демонстрируют возможность использования тритильной и силильной защитных групп для временной защиты 5'-гидроксильной группы в исходных нуклеозидах в реакциях *O*-рибозилирования.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker AMX 400 (Германия) при 300 К, значения химических сдвигов δ (в м.д.) рассчитаны относительно сигнала CHCl_3 (δ 7.20) для растворов в CDCl_3 и H_2O (δ 4.63) для растворов в D_2O . Величины КССВ (J) измерены в герцах. УФ-спектры снимали в воде на приборе Specord UV-VIS (Германия). ТСХ проводили на пластинках Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck, Германия) в системах: CH_2Cl_2 (А); CH_2Cl_2 -EtOH, 99 : 1 (Б); 98 : 2 (В); 95 : 5 (Г); 85 : 15 (Д). Масс-спектры регистрировали на приборе Kratos Concept 1Н (Великобритания).

1-[2,3-Ди-*O*-бензоил-5-*O*-(2,3,5-три-*O*-бензоил- β -*D*-рибофуранозил)- β -*D*-рибофуранозил]урацил (VIIIa). Метод А. К раствору 0.6 г (1.19 ммоль) 1-*O*-ацетил-2,3,5-три-*O*-бензоил- β -*D*-рибофуранозы (VII) в 10 мл сухого 1,2-дихлорэтана добавляли 0.17 мл (1.45 ммоль) SnCl_4 и перемешивали в атмосфере N_2 при 0°C 10 мин. Добавляли раствор 0.452 г (1 ммоль) 2',3'-ди-*O*-бензоилуридина (VIa) [11] в 5 мл 1,2-дихлорэтана и выдерживали 1 ч при 0°C. К реакционной смеси приливали 10% водный раствор NaHCO_3 (5 мл), перемешивали при 0°C 20 мин. Суспензию разбавляли хлороформом (20 мл) и фильтровали через Hyflo Super Cel. Органический слой отделяли, промывали водой (30 мл), сушили Na_2SO_4 , фильтровали и упаривали досуха. Остаток хроматографировали на силикагеле (50 г). Колонку промывали системой А (500 мл) и элюировали системой Б. Фракции, содержащие продукт, упаривали досуха. Выход 0.7 г (78%) (пена). R_f 0.65 (Г). ^1H -ЯМР (CDCl_3): 8.79 уш. с (1H, NH), 8.10–7.88 м (10H, Bz), 7.65 д (1H, $J_{6,5}$ 8.1, H6), 7.56–7.35 м (15H, Bz), 6.30 д (1H, $J_{1,2}$ 5.8, H1'), 5.96 дд (1H, $J_{5,\text{NH}}$ 2.2, H5), 5.84 дд (1H, $J_{3,2'}$ 4.8, $J_{3',4'}$ 7.3, H3''), 5.74 м (2H, H3', H2''), 5.64 т (1H, $J_{2,3}$ 5.8, H2'), 5.43 с (1H, H1''), 4.77 м (1H, H4''), 4.69 дд (1H, $J_{5'a,4'}$ 3.8, $J_{5'a,5'b}$ -12.1, H5'a), 4.62 дд (1H, $J_{5'b,4'}$ 5.3, H5'b), 4.49 м (1H, H4'), 4.26 дд (1H, $J_{5'a,4'}$ 2.4, $J_{5'a,5'b}$ -11.3, H5'a), 3.94 дд (1H, $J_{5'b,4'}$ 3.8, H5'b). ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 166.14, 165.31 и 165.09 (C=O), 162.64 (C4), 150.19 (C2), 139.82 (C6), 133.62, 133.58, 133.49, 133.21, 129.86, 129.78, 129.40, 128.96, 128.67, 128.49, 128.44, 128.37 и 128.33 (Bz), 105.80 (C1''), 103.76 (C5), 87.60 (C1'), 81.62 (C4'), 79.02 (C4''), 75.07 (C2''), 73.59 (C2'), 71.61 (C3''), 71.32 (C3'), 67.32 (C5'), 64.24 (C5'').

Метод Б. Конденсация сахара (VII) (1.19 ммоль) и нуклеозида (VIa) (0.452 г, 1 ммоль) в присутствии триметилсилилтрифлата (1.5 ммоль) в сухом 1,2-дихлорэтано (10 мл) приводила к соединению (VIIIa) с выходом 78%.

N^4 -Бензоил-1-[2,3-ди-*O*-ацетил-5-*O*-(2,3,5-три-*O*-бензоил- β -*D*-рибофуранозил)- β -*D*-рибофуранозил]цитозин (VIIIб) получен аналогично кон-

денсацией 0.855 г (1.69 ммоль) сахара (VII) с 0.60 г (1.39 ммоль) нуклеозида (VIb) [11] в присутствии 0.25 мл (2 ммоль) SnCl_4 в сухом 1,2-дихлорэтане (20 мл) при 0°C в течение 1 ч в виде пены. Выход 0.90 г (74%). R_f 0.64 (Г). ^1H -ЯМР (CDCl_3): 8.33 уш. с (1H, NH), 8.05–7.29 м (22H, Bz, H5.6), 6.13 д (1H, $J_{1,2}$ 4.2, H1'), 5.81 дд (1H, $J_{3,2}$ 4.9, $J_{3,4}$ 7.1, H3''), 5.70 д (1H, H2''), 5.40 м (2H, H2', 3'), 5.35 с (1H, H1''), 4.75 м (1H, H4''), 4.69 дд (1H, $J_{5'a,4}$ 3.9, $J_{5'a,5'b}$ -12.0, H5'a), 4.60 дд (1H, $J_{5'b,4}$ 5.5, H5'b), 4.30 м (1H, H4'), 4.15 дд (1H, $J_{5'a,4}$ 2.7, $J_{5'a,5'b}$ -11.4, H5'a), 3.79 дд (1H, $J_{5'b,4}$ 4.1, H5'b), 2.06 с (3H, Ac), 2.05 с (3H, Ac). ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 169.52, 169.33, 166.11, 165.32 и 165.13 (C=O), 162.71 (C4), 156.93 (C2), 143.86 (C6), 133.51, 133.40, 133.15, 133.06, 129.80, 129.75, 129.59, 129.05, 128.93, 128.47, 128.35 и 127.66 (Bz), 105.99 (C1''), 97.58 (C5), 88.91 (C1'), 81.05 (C4'), 77.32 (C4''), 75.10 (C2''), 73.83 (C2'), 71.87 (C3''), 70.10 (C3'), 67.01 (C5'), 64.42 (C5''), 20.44 (Me), 20.44 (Me).

1-(5-O-β-D-Рибофуранозил-β-D-рибофуранозил)урацил (IVa). Раствор 0.60 г (0.67 ммоль) нуклеозида (VIIIa) в 15 мл 5 М аммиака в метаноле выдерживали 3 сут при 20°C, упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в воде (20 мл), промывали хлороформом (2 × 10 мл). Водный слой упаривали в вакууме, добавляли ацетон. Выдерживали в течение 2 сут при 0°C, выпавший гигроскопичный осадок отфильтровывали, промывали ацетоном и сушили. Выход 0.2 г (80%). R_f 0.12 (Д). УФ, λ_{max} , нм (ϵ , $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$): 261 (9500) (рН 1–7); 261 (7400) (рН 13). ^1H -ЯМР (D_2O): 7.75 д (1H, $J_{6,5}$ 8.1, H6), 5.82 д (1H, $J_{1,2}$ 3.4, H1'), 5.81 д (1H, H5), 4.99 д (1H, $J_{1,2}$ 1.0, H1''), 4.27–4.18 м (3H, H2', 3', 4'), 4.13 дд (1H, $J_{3,2}$ 4.7, $J_{3,4}$ 7.0, H3''), 4.05 дд (1H, $J_{5'a,4}$ 2.5, $J_{5'a,5'b}$ -11.4, H5'a), 4.05 дд (1H, H2''), 3.98 ддд (1H, $J_{4',5'a}$ 3.2, $J_{4',5'b}$ 6.1, H4''), 3.75 дд (1H, $J_{5'a,5'b}$ -12.3, H5'a), 3.63 дд (1H, $J_{5'b,4}$ 4.1, H5'b), 3.55 дд (1H, $J_{5'b,4}$ 6.1, H5'b). ^{13}C -ЯМР (D_2O): 165.11 (C4), 150.46 (C2), 140.64 (C6), 106.29 (C1''), 100.96 (C5), 88.56 (C1'), 81.84 (C4'), 81.50 (C4''), 73.26 (C2'), 72.65 (C2''), 69.61 (C3'), 68.36 (C3''), 65.87 (C5'), 61.37 (C5''). Масс-спектр: вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{20}\text{N}_2\text{O}_{10} + \text{H}$ 377.1196; найдено 377.1194.

1-(5-O-β-D-Рибофуранозил-β-D-рибофуранозил)цитозин (IVб). Нуклеозид (VIIIб) дебензоилировали аналогично. Соединение (IVб) упаривали с метанолом и получали в виде гигроскопичной пены с выходом (90%). R_f 0.03 (Д). УФ, λ_{max} , нм (ϵ , $\text{M}^{-1} \text{cm}^{-1}$): 280 (12000) (рН 1); 270 (8400) (рН 7–13). ^1H -ЯМР (D_2O): 7.71 д (1H, $J_{6,5}$ 7.6, H6), 5.93 д (1H, H5), 5.80 д (1H, $J_{1,2}$ 3.3, H1'), 4.99 д (1H, $J_{1,2}$ 1.0, H1''), 4.20–4.17 м (3H, H2', 3', 4'), 4.11 дд (1H, $J_{3,2}$ 4.7, $J_{3,4}$ 7.0, H3''), 4.07 м (1H, H5'a), 4.05 дд (1H, H2''), 3.98 ддд (1H, $J_{4',5'a}$ 3.2, $J_{4',5'b}$ 6.3, H4''), 3.75 дд (1H, $J_{5'a,5'b}$ -12.3, H5'a), 3.63 м (1H, H5'b), 3.54 дд

(1H, H5'b). ^{13}C -ЯМР (D_2O): 164.93 (C4), 156.24 (C2), 140.33 (C6), 106.29 (C1''), 94.82 (C5), 89.31 (C1'), 81.85 (C4'), 81.04 (C4''), 73.27 (C2'), 73.04 (C2''), 69.75 (C3'), 68.20 (C3''), 65.77 (C5'), 61.53 (C5''). Масс-спектр: вычислено для $\text{C}_{14}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_9 + \text{H}$ 376.1356; найдено 376.1324.

3'-O-трет-Бутилдифенилсилил-5'-O-монометокситритилтимидин (XII). К раствору 5.15 г (10 ммоль) 5'-O-монометокситритилтимидина (XIII) и 0.68 г (10.0 ммоль) имидазола в 20 мл сухого пиридина добавляли 2.9 мл (11 ммоль) трет-бутилдифенилсилилхлорида. Реакционную смесь выдерживали 2 сут при 20°C, упаривали в вакууме, остаток растворяли в хлористом метиле (100 мл), последовательно промывали водой (50 мл), 10% водным раствором NaHCO_3 (50 мл), водой (50 мл). Органический слой сушили Na_2SO_4 , фильтровали, упаривали, упаривали с толуолом (4 × 15 мл). Остаток хроматографировали на силикагеле (100 г) в системе А. Фракции, содержащие продукт, упаривали досуха. Выход 6.48 г (86%) (пена). R_f 0.60 (В). ^1H -ЯМР (CDCl_3): 9.26 уш. с (1H, NH), 7.61–7.10 м (21H, H6, Ph), 7.01 д (2H, J 8.8, PhOMe), 6.62 д (2H, PhOMe), 6.37 дд (1H, $J_{1,2a}$ 6.1, $J_{1,2b}$ 7.7, H1'), 4.42 ддд (1H, $J_{3,2a}$ 2.6, $J_{3,2b}$ 6.0, $J_{3,4}$ 2.5, H3'), 3.94 ддд (1H, $J_{4',5'a}$ 2.5, $J_{4',5'b}$ 2.7, H4'), 3.66 с (3H, OMe), 3.10 дд (1H, $J_{5'a,5'b}$ -10.5, H5'a), 2.78 дд (1H, H5'b), 2.25 ддд (1H, $J_{2a,2b}$ -13.2, H2'a), 1.96 ддд (1H, H2'b), 1.24 д (3H, $J_{5,6}$ 1.2, 5-Me), 0.92 д (9H, $t\text{-Bu}$). ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 163.75 (C4), 150.29 (C2), 135.62 (C6), 158.66, 149.67, 134.74, 133.01, 130.26, 129.96, 129.52, 128.26, 127.85, 127.10, 123.71 и 113.16 (Ph, MeOTr), 110.99 (C5), 87.00 (Ph_3C), 86.70 (C4'), 84.81 (C1'), 73.89 (C3'), 63.37 (C5'), 55.20 (OMe), 41.07 (C2'), 26.81 (Me_3), 18.95 (SiCMe_3), 11.62 (5-Me).

3',5'-O-Ди-трет-бутилдифенилсилилтимидин (XIV). К раствору 2.42 г (10 ммоль) тимидина и 1.70 г (25 ммоль) имидазола в 20 мл сухого пиридина добавляли 6.5 мл (25 ммоль) трет-бутилдифенилсилилхлорида. Реакционную смесь выдерживали 2 сут при 20°C. После стандартной обработки хроматографировали на силикагеле в системе А, получали нуклеозид (XIV) в виде пены. Выход 6.76 г (94%). R_f 0.7 (В). ^1H -ЯМР (CDCl_3): 9.22 уш. с (1H, NH), 7.68–7.22 м (21H, H6, Ph), 6.54 дд (1H, $J_{1,2a}$ 5.3, $J_{1,2b}$ 9.0, H1'), 4.56 ддд (1H, $J_{3,2a}$ 1.2, $J_{3,2b}$ 5.6, $J_{3,4}$ 1.4, H3'), 4.00 ддд (1H, $J_{4',5'a}$ 2.0, $J_{4',5'b}$ 2.3, H4'), 3.75 дд (1H, $J_{5'a,5'b}$ -11.5, H5'a), 3.30 дд (1H, H5'b), 2.35 ддд (1H, $J_{2a,2b}$ -13.1, H2'a), 1.97 ддд (1H, H2'b), 1.51 д (3H, $J_{5,6}$ 1.2, 5-Me), 1.09 с (9H, $t\text{-Bu}$), 0.94 с (9H, $t\text{-Bu}$). ^{13}C -ЯМР (CDCl_3): 163.89 (C4), 150.40 (C2), 135.96 (C6), 135.63, 135.38, 135.09, 133.16, 133.06, 132.92, 132.10, 129.95 и 127.83 (Ph), 111.05 (C5), 87.69 (C4'), 84.68 (C1'),

73.91 (C3'), 63.94 (C5'), 41.25 (C2'), 26.83 (Me₃), 19.22 и 18.95 (SiCMe₃), 11.83 (5-Me).

3'-О-трет-Бутилдифенилсилитимидин (IXa). Раствор 7.53 г (10 ммоль) нуклеозида (XII) в 2% F₃CCO₂H в хлороформе (150 мл) выдерживали 15 мин при 20°C, добавляли 10% водный раствор NaHCO₃ (50 мл). Органический слой отделяли, промывали водой (50 мл), сушили Na₂SO₄, фильтровали, упаривали досуха, упаривали с толуолом. Остаток хроматографировали на силикагеле (100 г), промывали системой А, элюировали системой Б. Фракции, содержащие продукт, упаривали досуха. Выход 3.89 г (81%) (пена). R_f 0.29 (В). ¹H-ЯМР (CDCl₃): 9.88 уш. с (1H, NH), 7.64–7.35 м (11H, H6, Ph), 6.29 дд (1H, J_{1,2a} 6.0, J_{1,2b} 7.8, H1'), 4.44 ддд (1H, J_{3,2a} 2.7, J_{3,2b} 6.1, J_{3,4} 2.6, H3'), 3.97 ддд (1H, J_{4,5a} 2.5, J_{4,5b} 3.1, H4'), 3.60 дд (1H, J_{5a,5b} –12.0, H5'a), 3.23 дд (1H, H5'b), 3.09 уш. с (1H, OH), 2.23 ддд (1H, J_{2a,2b} –13.3, H2'a), 2.06 ддд (1H, H2'b), 1.76 д (3H, J_{5,6} 1.2, 5-Me), 1.06 с (9H, *t*-Bu). ¹³C-ЯМР (CDCl₃): 164.21 (C4), 150.54 (C2), 136.90 (C6), 135.74, 135.70, 133.24, 133.11, 133.10, 130.07 и 127.89 (Ph), 110.87 (C5), 87.74 (C4'), 86.40 (C1'), 73.06 (C3'), 61.92 (C5'), 40.33 (C2'), 26.89 (Me₃), 19.01 (SiCMe₃), 12.40 (5-Me).

3'-О-трет-Бутилдифенилсилитимидин-N⁴-бензоил-2'-дезокситидин (IXб) получали аналогично из N⁴-бензоил-5'-О-монометокситритил-2'-дезокситидина [12] в две стадии: силилирование и последующее детритилирование приводили к соединению (IXб) (пена) с суммарным выходом 79%. R_f 0.30 (В). ¹H-ЯМР (CDCl₃): 8.85 уш. с (1H, NH), 8.19 д (1H, J_{6,5} 7.5, H6), 7.81–7.33 м (16H, Ph, Vz, H5), 6.26 дд (1H, J_{1,2a} 6.2, J_{1,2b} 6.5, H1'), 4.42 ддд (1H, J_{3,2a} 3.7, J_{3,2b} 6.3, J_{3,4} 3.2, H3'), 4.02 ддд (1H, J_{4,5a} 2.4, J_{4,5b} 2.9, H4'), 3.64 дд (1H, J_{5a,5b} –12.1, H5'a), 3.22 дд (1H, H5'b), 2.57 ддд (1H, J_{2a,2b} –13.5, H2'a), 2.16 ддд (1H, H2'b), 1.08 с (9H, *t*-Bu). ¹³C-ЯМР (CDCl₃): 165.83 (C4), 162.08 (C=O), 155.04 (C2), 145.65 (C6), 135.71, 135.65, 133.28, 133.10, 132.94, 130.10, 130.04, 128.93, 127.86 и 127.53 (Ph и Vz), 96.58 (C5), 88.48 (C1'), 88.33 (C4'), 72.48 (C3'), 61.58 (C5'), 41.58 (C2'), 26.84 (Me₃), 18.98 (SiCMe₃).

1-[3-О-трет-Бутилдифенилсилитимидин-5-О-(2,3,5-три-О-бензоил-β-D-рибофуранозил)-2-деокси-β-D-рибофуранозил]тимин (Xa). Метод А. К раствору 1.65 г (3.27 ммоль) сахара (VII) в 30 мл 1,2-дихлорэтана добавляли 0.41 мл (3.53 ммоль) SnCl₄ и перемешивали в атмосфере N₂ при 0°C 10 мин. Затем добавляли 1.2 г (2.52 ммоль) нуклеозида (IXa). Реакционную смесь выдерживали 1 ч при 0°C, добавляли 10% водный раствор NaHCO₃ (10 мл), перемешивали образовавшуюся суспензию, через 20 мин добавляли метилхлорид (20 мл) и фильтровали через Hyflo Super Cel. Органический слой отделяли, промывали водой (2 × 10 мл), сушили над Na₂SO₄, фильтровали, рас-

творитель упаривали. Остаток хроматографировали на силикагеле (100 г). Колонку промывали системой А; целевое вещество элюировали системой Б. Фракции, содержащие продукт, упаривали досуха. Выход 1.8 г (78%). R_f 0.43 (В). ¹H-ЯМР (CDCl₃): 9.48 уш. с (1H, NH), 8.10–7.21 м (25H, Ph, Vz), 7.21 к (1H, J_{6,5} 1.2, H6), 6.41 дд (1H, J_{1,2a} 6.0, J_{1,2b} 7.8, H1'), 5.63 дд (1H, J_{3,2a} 5.0, J_{3,4} 7.2, H3'), 5.50 д (1H, H2'), 4.95 с (1H, H1''), 4.88 м (1H, H3'), 4.57 дд (1H, J_{5a,4a} 4.0, J_{5a,5b} –11.9, H5'a), 4.46 дд (1H, J_{5b,4a} 5.5, H5'b), 4.35 м (1H, H4''), 4.03 м (1H, H4'), 3.75 дд (1H, J_{5a,4a} 3.3, J_{5a,5b} –11.1, H5'a), 3.08 дд (1H, J_{5b,4a} 3.8, H5'b), 2.31 м (1H, H2'a), 1.89 м (1H, H2'b), 1.82 д (3H, 5-Me), 1.07 с (9H, *t*-Bu). ¹³C-ЯМР (CDCl₃): 165.94, 165.05 и 164.96 (C=O), 163.84 (C4), 150.35 (C2), 135.61 (C6), 135.65, 135.08, 133.53, 133.37, 133.21, 132.92, 132.83, 130.05, 129.99, 129.69, 129.26, 128.58, 128.32 и 127.80 (Ph и Vz), 111.26 (C5), 105.85 (C1''), 85.46 (C1'), 84.37 (C4'), 78.86 (C4'), 74.78 (C2''), 72.76 (C3''), 71.74 (C3'), 67.15 (C5'), 64.32 (C5''), 40.29 (C2'), 26.74 (Me₃), 18.88 (SiCMe₃), 12.36 (5-Me).

Метод Б. Аналогичная конденсация нуклеозида (XII) (1 ммоль) с сахаром (VII) (1.2 ммоль) в присутствии SnCl₄ (1.4 ммоль) в сухом 1,2-дихлорэтано (10 мл) при 0°C в течение 1 ч приводила к соединению (Xa) с выходом 84%.

Метод В. Конденсация сахара (VII) (0.8 ммоль) с нуклеозидом (XIV) (1 ммоль) в присутствии SnCl₄ (1.2 ммоль) в сухом 1,2-дихлорэтано (10 мл) при 20°C в течение 16 ч давала соединение (Xa) с выходом 46%.

Метод Г. Конденсация сахара (VII) (0.8 ммоль) с нуклеозидом (XIV) (1 ммоль) в присутствии триметилсилитрифлата (1.5 ммоль) в сухом 1,2-дихлорэтано (10 мл) при 20°C в течение 16 ч приводила к соединению (Xa) с выходом 76%.

N⁴-Бензоил-1-[3-О-трет-бутилдифенилсилитимидин-5-О-(2,3,5-три-О-бензоил-β-D-рибофуранозил)-2-деокси-β-D-рибофуранозил]цитозин (Xб) получали аналогично конденсацией 1.21 г (2.4 ммоль) сахара (VII) с 1.18 г (2.07 ммоль) нуклеозида (IXб) в присутствии 0.33 мл (2.8 ммоль) SnCl₄ в 1,2-дихлорэтано (20 мл) при 0°C в течение 40 мин в виде пены. Выход 1.6 г (79%). R_f 0.48 (В). ¹H-ЯМР (CDCl₃): 8.71 уш. с (1H, NH), 8.10–7.25 м (32H, Ph, Vz, H5,6), 6.34 т (1H, J_{1,2a} = J_{1,2b} 6.3, H1'), 5.63 дд (1H, J_{3,2a} 4.8, J_{3,4} 7.3, H3''), 5.46 д (1H, H2''), 4.87 с (1H, H1''), 4.66 м (1H, H3'), 4.57 дд (1H, J_{5a,4a} 4.0, J_{5a,5b} –11.9, H5'a), 4.45 дд (1H, J_{5b,4a} 5.5, H5'b), 4.32 м (1H, H4''), 4.09 м (1H, H4'), 3.77 дд (1H, J_{5a,4a} 3.3, J_{5a,5b} –11.0, H5'a), 3.06 дд (1H, J_{5b,4a} 4.1, H5'b), 2.68 м (1H, H2'a), 1.95 м (1H, H2'b), 1.06 с (9H, *t*-Bu). ¹³C-ЯМР (CDCl₃): 166.05, 165.25 и 165.01 (C=O), 162.00 (C4), 156.81 (C2), 144.10 (C6), 135.75, 135.70, 133.58, 133.40, 133.20, 133.00, 132.82, 130.13,

130.09, 129.77, 129.40, 128.92, 128.53, 128.30, 127.89 и 127.57 (Ph и Bz), 105.64 (C1"), 96.72 (C5), 87.05 (C1'), 86.08 (C4'), 78.80 (C4"), 74.94 (C2"), 72.34 (C3"), 71.84 (C3'), 66.82 (C5'), 64.36 (C5"), 41.87 (C2'), 26.84 (Me₃), 19.00 (SiCMe₃).

1-[5-О-(2,3,5-три-О-бензоил-β-D-рибофуранозил)-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил]тимин (XIa). Метод А. Раствор 0.925 г (1 ммоль) нуклеозида (Ха) в 0.5 М тетрабутиламмоний фториде в тетрагидрофуране (3 мл) выдерживали 30 мин при 20°C. Реакционную смесь упаривали в вакууме, перепаривали с хлороформом (2 × 10 мл) и хроматографировали на силикагеле (20 г). Колонку последовательно промывали системой А (300 мл), системой Б (200 мл), Элюция системой В приводила к соединению (XIa) в виде пены. Выход 0.53 г (77%). *R_f* 0.45 (Г). ¹H-ЯМР (CDCl₃): 9.95 уш. с (1H, NH), 7.90–7.23 м (16H, Bz, H6), 6.30 т (1H, J_{1,2a} = J_{1,2b} 6.8, H1'), 5.78 дд (1H, J_{3,2'} 5.0, J_{3,4'} 7.0, H3"), 5.69 д (1H, H2"), 5.34 с (1H, H1"), 4.74 м (1H, H3'), 4.66 дд (1H, J_{5'a,4'} 4.0, J_{5'a,5'b} -11.9, H5'a), 4.59 дд (1H, J_{5'b,4'} 5.6, H5'b), 4.43 м (1H, H4"), 4.09 м (1H, H4'), 4.01 дд (1H, J_{5'a,4'} 3.4, J_{5'a,5'b} -11.0, H5'a), 3.73 дд (1H, J_{5'b,4'} 4.3, H5'b), 2.34 м (1H, H2'a), 2.12 м (1H, H2'b), 1.84 д (3H, J_{5,6} 1.2, 5-Me). ¹³C-ЯМР (CDCl₃): 166.11, 165.20 и 165.16 (C=O), 164.08 (C4), 150.56 (C2), 135.47 (C6), 133.46, 133.34, 133.17, 129.57, 129.53, 129.48, 129.20, 128.70, 128.49, 128.35 и 128.24 (Ph), 111.10 (C5), 105.95 (C1"), 85.06 (C1'), 84.77 (C4'), 78.94 (C4"), 74.97 (C2"), 71.94 (C3"), 71.37 (C3'), 67.90 (C5'), 64.47 (C5"), 39.81 (C2'), 12.36 (5-Me).

Метод Б. Конденсация сахара (VII) (0.8 ммоль) с нуклеозидом (XIII) (1 ммоль) в присутствии SnCl₄ (1.2 ммоль) в сухом 1,2-дихлорэтане (10 мл) при 20°C в течение 16 ч приводила к соединению (XIa) с выходом 38% и 1-[3-О-(2,3,5-три-О-бензоил-β-D-рибофуранозил)-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил]тимину (3%) [10] *R_f* 0.55 (Г).

N⁴-Бензоил-1-[5-О-(2,3,5-три-О-бензоил-β-D-рибофуранозил)-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил]цитозин (XIб) синтезировали аналогично десилилированием соединения (Xб). Получали нуклеозид (XIб) в виде пены с выходом 79%. *R_f* 0.50 (Г). ¹H-ЯМР (CDCl₃): 8.96 уш. с (1H, NH), 8.22 д (1H, J_{6,5} 7.5, H6), 8.10–7.27 м (21H, Bz, H5), 6.25 т (1H, J_{1,2a} = J_{1,2b} 6.0, H1'), 5.80 дд (1H, J_{3,2'} 4.9, J_{3,4'} 7.2, H3"), 5.68 д (1H, H2"), 5.33 с (1H, H1"), 4.76 м (1H, H3'), 4.70 дд (1H, J_{5'a,4'} 3.9, J_{5'a,5'b} -11.9, H5'a), 4.60 дд (1H, J_{5'b,4'} 5.5, H5'b), 4.42 м (1H, H4"), 4.19 м (1H, H4'), 4.09 дд (1H, J_{5'a,4'} 3.4, J_{5'a,5'b} -11.1, H5'a), 3.70 дд (1H, J_{5'b,4'} 5.0, H5'b), 2.70 м (1H, H2'a), 2.18 м (1H, H2'b). ¹³C-ЯМР (CDCl₃): 166.15, 165.31 и 165.28 (C=O), 162.51 (C4), 155.13 (C2), 144.22 (C6), 135.65, 133.36, 133.19, 133.04, 132.88, 129.67, 129.35, 128.71, 128.42, 128.30 и 127.75 (Bz), 105.84 (C1"), 97.16 (C5), 87.36 (C1'), 85.73 (C4'), 78.95 (C4"), 75.15

(C2"), 72.01 (C3"), 70.71 (C3'), 67.61 (C5'), 64.45 (C5"), 41.37 (C2').

1-(5-О-β-D-Рибофуранозил-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)тимин (Va). Раствор 0.35 г (0.51 ммоль) нуклеозида (XIa) в 5 М аммиаке в метаноле выдерживали 3 сут при 20°C, упаривали в вакууме досуха. Остаток растворяли в воде (20 мл), промывали хлороформом (2 × 10 мл). Водный слой упаривали в вакууме, остаток кристаллизовали из воды. Выход 0.14 г (73%). *R_f* 0.20 (Д), т. пл. 174–176°C. УФ, λ_{max}, нм (ε, M⁻¹ см⁻¹): 267 (9500) (pH 1–7); 266 (7100) (pH 13). ¹H-ЯМР (D₂O): 7.36 д (1H, J_{6,5} 1.2, H6), 6.12 т (1H, J_{1,2a} = J_{1,2b} 6.7, H1'), 4.88 с (1H, H1"), 4.34 м (1H, H3'), 3.99 дд (1H, J_{3,2'} 4.7, J_{3,4'} 6.9, H3"), 3.94 м (2H, H2", H4'), 3.86 м (2H, H4", H5'a), 3.62 дд (1H, J_{5'b,4'} 3.2, J_{5'b,5'a} -12.2, H5"a), 3.48 дд (1H, J_{5'a,4'} 5.4, J_{5'a,5'b} -11.2, H5'b), 3.41 дд (1H, J_{5'b,4'} 6.5, H5"b), 2.23 м (2H, H2'a,2'b), 1.74 д (3H, 5-Me). ¹³C-ЯМР (D₂O): 164.59 (C4), 152.30 (C2), 138.23 (C6), 112.16 (C5), 108.09 (C1"), 85.91 (C1'), 85.62 (C4'), 83.70 (C4"), 75.06 (C2"), 71.65 (C3"), 71.25 (C3'), 68.07 (C5'), 63.56 (C5"), 38.95 (C2'), 12.40 (5-Me). Масс-спектр: вычислено для C₁₅H₂₂N₂O₉+H 375.1404; найдено 375.1407.

1-(5-О-β-D-Рибофуранозил-2-дезоксид-β-D-рибофуранозил)цитозин (Vб). Соединение (XIб) дебензоилировали аналогично. Продукт упаривали с метанолом, получали нуклеозид (Vб) в виде гигроскопичной пены с выходом 95%. *R_f* 0.05 (Д). УФ, λ_{max}, нм (ε, M⁻¹ см⁻¹): 280 (12100) (pH 1); 270 (8400) (pH 7–13). ¹H-ЯМР (D₂O): 7.76 д (1H, J_{6,5} 7.6, H6), 6.21 т (1H, J_{1,2a} = J_{1,2b} 6.3, H1'), 6.02 д (1H, H5), 5.03 с (1H, H1"), 4.43 м (1H, H3'), 4.18–4.01 м (5H, H4',5'a,2",3",4"), 3.84–3.57 м (3H, H5'b,5'a,5"b), 2.36 м (2H, H2'a,2'b). ¹³C-ЯМР (D₂O): 164.75 (C4), 155.86 (C2), 141.04 (C6), 106.73 (C1"), 95.23 (C5), 85.63 (C1'), 84.54 (C4'), 82.27 (C4"), 73.70 (C2"), 70.19 (C3"), 70.00 (C3'), 66.86 (C5'), 62.04 (C5"), 38.71 (C2'). Масс-спектр: вычислено для C₁₄H₂₁N₃O₈+H 360.1407; найдено 360.1425.

Авторы благодарят Российский фонд фундаментальных исследований за финансирование настоящей работы (проект № 98-03-32948а).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Mikhailov S.N., Rodionov A.A., Efimtseva E.V., Fomitcheva M.V., Padyukova N.Sh., Herdewijn P., Oivanen M. // Carbohydrate Lett. 1997. V. 2. P. 321–328.
2. Isono K.J. // Antibiotics. 1988. V. 41. P. 1711–1739.
3. Lerner L.M. // Chemistry of Nucleosides and Nucleotides / Ed. L.B. Townsend. N.Y.: Plenum Press, 1991. V. 2. P. 27–79.
4. Simsek M., RajBhandary U.L. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1972. V. 49. P. 508–515.

5. Keith G., Glasser A.-L., Desgres J., Kuo K.C., Gehrke C.W. // Nucl. Acids Res. 1990. V. 18. P. 5989–5993.
6. Limbach P.A., Crain P.F., McCloskey J.A. // Nucl. Acids Res. 1994. V. 22. P. 2183–2196.
7. Niewczyk A., Krzyzaniak A., Barciszewski J., Markiewicz W.T. // Nucleosides Nucleotides. 1991. V. 10. P. 635–638.
8. Mikhailov S.N., De Bruyn A., Herdewijn P. // Nucleosides Nucleotides. 1995. V. 14. P. 481–484.
9. Mikhailov S.N., Efimtseva E.V., Gurskaya G.V., Zavadnik V.E., De Bruyn A., Janssen G., Rozenski J., Herdewijn P. // J. Carbohydr. Chem. 1997. V. 16. P. 75–92.
10. Mikhailov S.N., De Clercq E., Herdewijn P. // Nucleosides Nucleotides. 1996. V. 15. P. 1323–1334.
11. Beigelman L.N., Mikhailov S.N. // Carbohydr. Res. 1990. V. 203. P. 324–329.
12. Charubala R., Uhlmann E., Beiter A.H., Pfeleiderer W. // Synthesis. 1984. № 11. P. 965–968.
13. Kohli V., Blocker H., Koster H. // Tetrahedron Lett. 1980. V. 21. P. 2683–2686.
14. Ogilvie K.K. // Nucleosides, Nucleotides, and their Biological Applications / Eds J.L. Rideout, D.W. Henry, L.M. Beacham. N.Y.: Academic Press, 1983. P. 209–256.

Disaccharide Nucleosides:

Synthesis of Pyrimidine 5'-O- β -D-ribofuranosylribo- and -2'-deoxyribonucleosides

A. A. Rodionov, E. V. Efimtseva[#], M. V. Fomicheva, N. Sh. Padyukova, and S. N. Mikhailov

*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences,
ul. Vavilova 32, Moscow 117984, Russia*

The easy synthesis of pyrimidine 5'-O- β -D-ribofuranosyl nucleosides from 2',3'-di-O-acetylribonucleosides and 3'-O-*tert*-butyldiphenylsilyl-2'-deoxyribonucleosides is described. The stability upon O-glycosylation of various protecting groups is studied. The structure of the prepared disaccharide nucleosides is confirmed by NMR spectroscopy.

Key words: nucleosides, disaccharide; O-glycosylation, stereospecificity; protecting groups, stability; NMR spectroscopy

[#] To whom correspondence should be addressed.