

В. К. ШИБАЕВ, Г. И. ЕЛИСЕЕВА,
член-корреспондент АН СССР Н. К. КОЧЕТКОВ

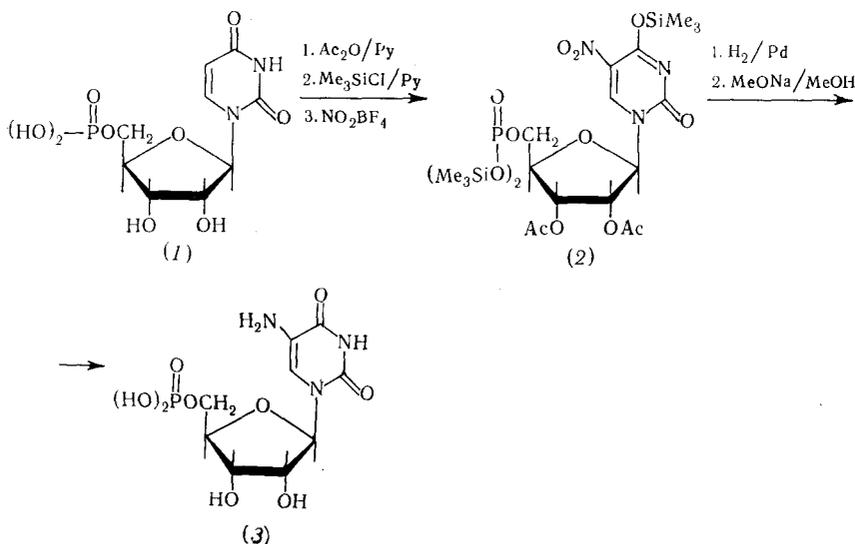
**СИНТЕЗ 5-АМИНОУРИДИН-5'-ФОСФАТА
И 5-МЕТОКСИУРИДИН-5'-ФОСФАТА**

Аналоги производных уридина, замещенные у С-5 пиримидинового ядра, широко используются в исследованиях механизма биологического функционирования полинуклеотидов (1). Некоторые из них являются эффективными мутагенами и обладают полезными терапевтическими свойствами (2). Получение новых соединений этого ряда представляет большой интерес.

Целью настоящей работы было описание нового удобного подхода к синтезу 5-аминоуридин-5'-фосфата и получение неопisanного ранее 5-метоксиуридин-5'-фосфата. Эти соединения необходимы как исходные вещества для синтеза соответствующих нуклеозиддифосфатсахаров для исследований, проводимых в нашей лаборатории, по связи структуры и биологической функции нуклеозиддифосфатсахаров. В то же время нужно отметить, что полученные производные уридин-5'-фосфата могут найти применение и при исследовании других проблем.

Обычно 5-аминоуридин получается взаимодействием 5-бромуридина с аммиаком при повышенной температуре (3). Эти условия реакции вряд ли могут быть успешно перенесены на соответствующий нуклеозид-5'-фосфат. Описано (4) получение 5-аминоуридин-5'-фосфата фосфорилированием 5-аминоуридина, однако выход конечного продукта в этой реакции невысок.

Нас привлекла возможность нового подхода к введению заместителей по С-5 уридин-5'-фосфата путем нитрования последнего в мягких условиях. Мы использовали для этой цели борфторид нитрония, неоднократно использовавшийся для нитрования ароматических соединений (5-7); применение его к гетероциклическим соединениям ограничено N-нитрованием пиридина (8). Оказалось, что этот путь может быть применен для препаративного синтеза 5-аминоуридин-5'-фосфата по следующей схеме:



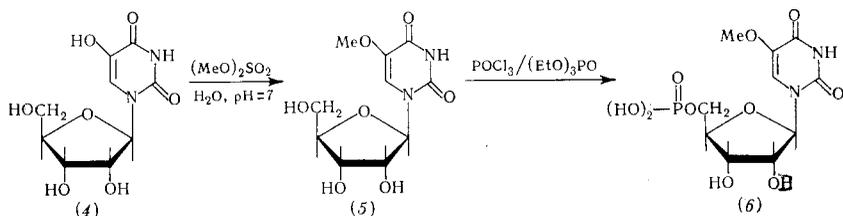
Гидроксильные группы остатка рибозы в исходном уридин-5'-фосфате (1) были защищены ацилированием уксусным ангидридом в пиридине (8), а для защиты оставшихся свободными функциональных групп в молекуле нуклеотида была использована обработка триметилхлорсиланом и гексаметилдисилазаном (10). Полученное защищенное производное без дальнейшей очистки обрабатывали борфторидом нитрония в сульфолане. Для реакции использовался 5-кратный избыток нитрующего агента, смесь содержала эквивалентное нитрующему агенту количество ацетата лития. После проведения нитрования в течение 16 час. при комнатной температуре избыток борфторида нитрония был разрушен добавлением бензола и продукт реакции, имеющий, по-видимому, структуру (2), был выделен осаждением абсолютным эфиром. Ввиду высокой лабильности этого соединения дополнительная очистка его не проводилась; можно отметить только, что его у.-ф. спектр (λ_{\max} 305 м μ , λ_{\min} 260 м μ ; $\epsilon_{305} / \epsilon_{260} = 2,5-3$) близок к описанному в литературе спектру 5-нитроуридина (11).

Неочищенный продукт (2) подвергали каталитическому гидрированию над палладием на угле в метанольном растворе. Процесс восстановления нитрогруппы удобно контролировать по изменению у.-ф. спектра подкисленной до pH 1 аликвоты реакционной смеси. В этих условиях производные 5-аминоуридина имеют максимум около 265 м μ . После окончания восстановления реакционную смесь обрабатывали раствором метилата натрия в метаноле pH 9-10 в течение 1 часа при комнатной температуре, нуклеотиды выделяли из реакционной смеси осаждением бариевых солей. 5-Аминоуридин-5'-фосфат очищали ионообменной хроматографией на Дауэкс-1 (НСО $^-$ -форма). Элюция нуклеотида достигается при пропускании 0,05 *N* раствора муравьиной кислоты. Хроматографически однородный (R_f 0,33 в системе этанол 0,5 *M* АсОН $_4$, pH 7,5 (5 : 2)) 5-аминоуридин-5'-фосфат выделен с выходом 33%, считая на уридин-5'-фосфат.

Его структура подтверждается характерным у.-ф. спектром (11) (λ_{\max} 266 м μ , λ_{\min} 231 м μ (1 *N* HCl); λ_{\max} 294 м μ , λ_{\min} 257 м μ (вода)). Вещество обладает хроматографической подвижностью при электрофорезе при pH 7,5, соответствующей подвижности 5'-фосфатной группы. При обработке змеиным ядом нуклеотид количественно дефосфорилируется, что подтверждает 5'-положение фосфатной группы. Помимо 5-аминоуридинфосфата при ионообменном разделении реакционной смеси (элюция 0,5 *N* HСООН) было выделено также небольшое количество неидентифицированного нуклеотидного производного с λ_{\max} 275 м μ (вода).

Производные 1-замещенных 5-метоксиурацилов ранее в литературе не описаны, за исключением 1-метил-5-метоксиурацила, полученного полным синтезом (12). Наши попытки получить 5-метоксиуридин-5'-фосфат нуклеофильным замещением у С-5 в 5-бромуридин-5'-фосфате и 5-бром-5,6-дигидро-6-метоксиуридин-5'-фосфате оказались безуспешными. В отличие от гладко протекающего замещения на гидроксильную группу при нагревании с водным пиридином (13) или раствором бикарбоната натрия (14), при реакции с метанолом в пиридине или с метилатом натрия в метаноле мы неизменно выделяли лишь исходное вещество и неидентифицированный продукт, в котором, по данным спектра я.м.р., отсутствует метоксильная группа.

Синтез 5-метоксиуридин-5'-фосфата (6) удалось осуществить избирательным метилированием 5-оксиуридина (4) с последующим фосфорилированием нуклеозида (5):



Мы обнаружили, что при обработке эмульсией диметилсульфата в воде с поддержанием рН 7 постепенным добавлением бикарбоната натрия удается провести избирательное метилирование фенольной гидроксильной группы в 5-оксиуридине. Помимо нуклеозида (5) в смеси присутствует исходное вещество и небольшое количество соединения, которое, по данным спектра я.м.р., является, по-видимому, 3-метил-5-метоксиуридином. После отделения монометилсульфата пропусканием реакционной смеси через анионит Дауэкс-1 (HCO_3^- -форма) ее компоненты были разделены препаративной хроматографией на бумаге (система изопропанол — аммиак — вода, 7 : 1 : 2). Из зоны с R_f 0,33 элюцией водой был выделен кристаллический 5-метоксиуридин (5) с выходом 40%, т. пл. 210—212° (вода).

Найдено %: N 10,21; Вычислено %: N 10,22

Его структура подтверждается данными спектра я.м.р.: имеется синглет с химическим сдвигом δ 8,55 м.д., характерный для протона при C_6 урацильного ядра, дублет с δ 5,83 м.д. ($J = 1,2$ гц), соответствующий аномерному протону при C_1 рибозного остатка и синглет с δ 3,66 м.д. (3H), характерный для метоксильной группы. У.-ф. спектр полученного соединения (λ_{max} 280 мμ; λ_{min} 245 мμ (0,1 N HCl); λ_{max} 278 мμ; λ_{min} 251 мμ (0,1 N KOH)) близок к у.-ф. спектру 1-метил-5-метоксиурацила (12).

Для фосфорилирования (5) мы использовали действие хлорокиси фосфора (8-кратный избыток) в триэтилфосфате (15, 16), которое, согласно литературным данным, избирательно направляется по первичной гидроксильной группе. Реакция проводилась в течение 16 час. при 4°. Продукт реакции был выделен осаждением эфиrom и очищен ионообменной хроматографией на Дауэкс-1 (HCO_3^- -форма). Монофосфат был элюирован 0,15 N раствором триэтиламонийбикарбоната, выход его составил 20%. Наряду с монофосфатом в смеси присутствуют непрореагировавший нуклеозид и, по-видимому, нуклеозиддифосфат.

У.-ф. спектр выделенного хроматографически однородного нуклеозидмонофосфата соответствует у.-ф. спектру 5-метоксиуридина, гидролиз змеиным ядом подтверждает 5'-положение фосфатной группы. Соотношение основание : фосфор — 1 : 0,98. Таким образом, полученное вещество имеет структуру 5-метоксиуридин-5'-фосфата.

Институт органической химии
им. Н. Д. Зелинского
Академии наук СССР
Москва

Поступило
18 XI 1971

ЦИТИРОВАННАЯ ЛИТЕРАТУРА

- ¹ Н. К. Кочетков, Э. И. Будовский и др., Органическая химия нуклеиновых кислот, М., 1970, стр. 318. ² P. Langen, Antimetabolite des Nucleinsäure — Stoffwechsels, Berlin, 1968, p. 46. ³ M. Roberts, D. W. Visser, J. Am. Chem. Soc., 74, 668 (1952). ⁴ M. Ikehara, T. Ueda, K. Ikeda, Chem. Pharm. Bull., 10, 767 (1962). ⁵ G. Olah, S. Kuhn, A. Meinko, J. Chem. Soc., 1956, 4257. ⁶ K. Kuhn, G. Olah, J. Am. Chem. Soc., 83, 4564 (1961). ⁷ R. E. Olsen, D. W. Fish, E. E. Hamel, Adv. in Chem. Ser., 54, 48 (1966). ⁸ G. Olah, J. Olah, M. A. Overchuk, J. Org. Chem., 30, 3373 (1965). ⁹ D. M. Broun, A. Todd, S. Varadarajan, J. Chem. Soc., 1956, 2388. ¹⁰ T. Hashizume, Y. Sasaki, Anal. Biochem., 15, 199 (1966). ¹¹ J. Wempfen, J. Doer et al., J. Am. Chem. Soc., 82, 1624 (1960). ¹² Z. Budesinsky, J. Prikryl, E. Svatek, Coll. Czechoslov. Chem. Commun., 29, 2980 (1964). ¹³ D. A. Smith, D. W. Visser, J. Biol. Chem., 240, 446 (1965). ¹⁴ S. Wang J. Am. Chem. Soc., 81, 3786 (1959). ¹⁵ M. Joshikawa, T. Kato, T. Takenishi, Bull. Chem. Soc. (Japan), 42, 3505 (1969). ¹⁶ S. Y. Chu, J. F. Henderson, Canad. J. Chem., 48, 2306 (1970).