

МИНИСТЕРСТВО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ
САМАРСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

Кафедра органической химии

П.П. Пурыгин, В.В. Вишняков, Ю.П. Зарубин

ХИМИЯ НУКЛЕОЗИДОВ

*Учебное пособие к спецкурсу
«Химия природных соединений»*

Издательство «Самарский университет»
2002

*Печатается по решению Редакционно-издательского совета
Самарского государственного университета*

УДК 547.963.32

ББК 24.2

П 889

Пурыгин П.П., Вишняков В.В., Зарубин Ю.П. Химия нуклеозидов: Учебное пособие к спецкурсу «Химия природных соединений». Самара: Изд-во «Самарский университет», 2002, 44 с.

В учебном пособии подробно рассматриваются структура, химические свойства и реакционная способность нуклеозидов, являющихся важнейшими компонентами нуклеиновых кислот. Описываются также методики синтеза различных производных нуклеозидов.

Учебное пособие к спецкурсу «Химия природных соединений» предназначено для студентов специальности «Химия», специализирующихся по органической химии.

УДК 547.963.32

ББК 24.2

Рецензент д-р хим. наук, проф. Л.Б. Серёжкина

© Пурыгин П.П., Вишняков В.В.,
Зарубин Ю.П., 2002.

© Издательство «Самарский
университет», 2002

Текст печатается в авторской редакции

Компьютерная верстка. макет Ю.П. Зарубин

Лицензия ИД № 06178 от 01.11.01. Подписано в печать 19.02.2002. Формат 60×84/16.

Бумага офсетная. Печать оперативная. Уч.-изд. л. 2,6; усл.-печ. л. 2,75.

Гарнитура «Times New Roman». Тираж 100 экз. Заказ №78У.

Издательство «Самарский университет», 443011, г. Самара, ул. Акад. Павлова, 1.

УОП СамГУ, ПЛД № 67-43 от 19.02.98.

ВВЕДЕНИЕ

В 1869 г. Ф. Мишер выделил из ядер клеток вещество, которое обладало кислотными свойствами, и назвал его нуклеиновой кислотой (НК). Тридцать лет понадобилось учёным для установления структуры всех гетероциклических оснований, входящих в состав НК, а затем и углеводного компонента – *D*-рибозы и 2-дезоксид-*D*-рибозы. Однако химия НК выделилась в отдельную область химической науки только в середине XX века. Большая роль в этом принадлежит фундаментальным исследованиям А. Тодда и его школы. Так, Тодд с сотрудниками установили структуру мономерных компонентов НК и природу межмономерной связи в них. За данные работы Тодд в 1957 г. был удостоен Нобелевской премии.

Большую роль в развитии химии мононуклеотидов (мономерных компонентов НК) оказали как работы в области химии углеводов (У. Хеурорс), так и развитие новых методов исследования, таких как хроматографический анализ, электрофорез, УФ, ЯМР спектроскопия и многие другие. Благодаря данным методам, стало возможным работать с очень небольшими количествами веществ, что привело к развитию методов анализа НК и, кроме того, дало возможность расширить фронт синтетических исследований. В то же время произошел знаменитый переворот в химии НК. Прежде всего, была осознана исключительная роль НК как генетического материала. Кроме того, было показано, что инфекционность вирусов определяется НК.

Проведённые аналитические исследования Э. Чаргаффа позволили установить уникальную закономерность нуклеотидного состава дезоксирибонуклеиновых кислот (ДНК), т. е. содержание остатков аденина равно содержанию остатков тимина и содержание остатков гуанина равно содержанию остатков цитозина. Все эти данные вместе с результатами рентгеноструктурного анализа ДНК позволили Дж. Уотсону и Ф. Крику установить пространственную структуру ДНК (1953 г.). Уотсон и Крик показали, что молекула ДНК – двутяжевая спираль со строгой укладкой остатков пуриновых и пиримидиновых оснований: аденин–тимин (А–Т), гуанин–цитозин (G–C), т. е. впервые был сформулирован принцип комплементарности, а именно: последовательность остатков оснований, а следовательно и мономерных звеньев, в одной цепи ДНК однозначно определяет последовательность мономерных звеньев в другой (комплементарной) цепи. За эти исследования по расшифровке пространственной структуры ДНК Дж. Уотсону, Ф. Крику и М. Уилкинсу в 1962 г. была присуждена Нобелевская премия.

Начиная с 1955 г., развитие химии НК и новой науки – молекулярной биологии – было стремительным. Вот его основные этапы:

- установление роли рибосом в биосинтезе белка;
- описание и сборка рибосом;
- создание белоксинтезирующей системы *in vitro*;
- установление структуры генетического кода и его универсальности;
- выделение низкомолекулярных транспортных рибонуклеиновых кислот (тРНК) в индивидуальном состоянии;
- установление первичной и пространственной структур тРНК;
- выделение и идентификация информационных РНК (иРНК), циклических ДНК;
- синтез олиго- и полинуклеотидов и их применение в качестве моделей НК;
- синтез фрагментов ДНК и полного гена тРНК.

Была установлена структура ДНК фага φX174 (5375 нуклеотидов). В настоящее время проводится расшифровка структуры геномов высших организмов.

Химиками-органиками достигнуты значительные успехи в изучении реакционной способности НК. Так, была показана идентичность результатов, полученных с помощью рентгеноструктурного анализа и метода химической модификации, при определении пространственной структуры тРНК, а также структуры комплексов НК с другими биополимерами, например с белками (рибосом, нуклеосом, хроматина, вирусных частиц и т. д.).

Подводя итоги, в исследованиях нуклеиновых кислот можно выделить следующие этапы.

1. Предварительные исследования, которые охватывают работы Ф. Мишера, выделившего НК и определившего её элементный состав, результаты А. Косселя, показавшего наличие двух типов НК в клетках (ДНК, РНК) и, наконец, работы Э. Фишера по изучению пуринов и пиримидинов, которые представляют собой компоненты НК.

2. Период с начала по тридцатые годы XX века. В эти годы изучаются в основном продукты расщепления нуклеиновых кислот. Так, Ф. Левин и отчасти Дж. Гулланд установили структуру углеводного остатка компонентов НК, нуклеозидов и нуклеотидов. Ими предложена тетра-нуклеотидная гипотеза строения НК, которая не подтвердилась. Однако отсутствие хороших методов выделения НК, физико-химических и биологических характеристик НК и данных об их роли в процессах жизнедеятельности значительно сдерживало развитие исследований в этой области.

3. В начале сороковых годов XX века О. Эйвери, К. Мак-Леод и М. Мак-Картти получили экспериментальные данные об участии НК в передаче генетической информации. А. Todd с сотрудниками полностью доказали строение нуклеозидов и нуклеотидов и разработали методы их синтеза. Полученные данные и результаты исследований Э. Чаргаффа легли в основу гипотезы Дж. Уотсона и Ф. Крика о пространственном строении ДНК.

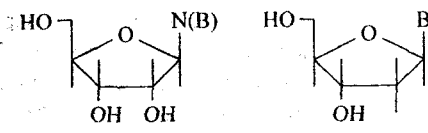
4. 1955–1965 гг. – бурное развитие исследований нуклеиновых кислот. В этот период были изучены биосинтез НК (А. Корнберг, С. Очоа), механизм передачи и реализации генетической информации (Ф. Крик, Ф. Жакоб, Ж. Моно, М. Ниренберг). Много было сделано в физической и синтетической химии НК (П. Доти, Х. Корана).

5. С 1963 г. и по настоящее время. В этот период были разработаны методы определения первичной структуры низкомолекулярных РНК (Р. Холли, Ф. Сенгер), осуществлён синтез достаточно крупных дезоксиполинуклеотидных матриц (Х. Корана). В это время широко изучается органическая химия НК и их компонентов, использование химических методов на всех стадиях исследования, а именно: при выделении, изучении структуры и функции НК и нуклеопротеидных комплексов.

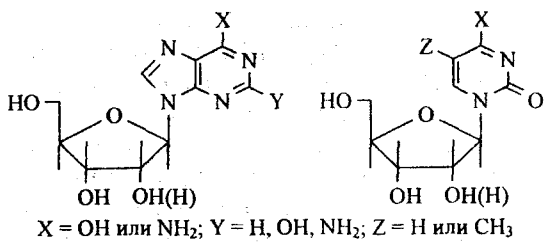
В заключение следует отметить, что глубокое проникновение в природу живой материи становится мощным оружием в руках человека, и как оно будет использовано – зависит от всех людей нашей планеты. Теперь перейдём к изучению свойств компонентов нуклеиновых кислот.

СТРУКТУРА НУКЛЕОЗИДОВ

Впервые термин "нуклеозид" ввели в 1909 г. Ф. Левин и У. Джекобс для углеводных производных пуриновых оснований, затем его распространили на соединения, содержащие пиримидины и другие гетероциклические основания. В настоящее время нуклеозиды – это большой класс природных и синтетических веществ, являющихся N- или C-гликозидами – производными различных углеводов и гетероциклических оснований. В состав НК входят нуклеозиды двух типов: рибонуклеозиды – производные D-рибозы и дезоксирибонуклеозиды – производные 2-дезокси-D-рибозы.



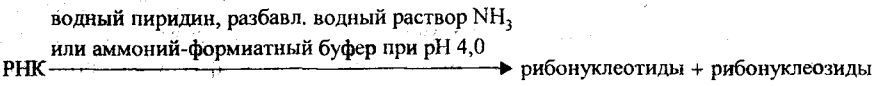
В зависимости от структуры гетероциклического основания (В) нуклеозиды делят на пуриновые (пуридиннуклеозиды) и пиримидиновые (пиримидиннуклеозиды):



Если заместители X и/или Y = OH, то основание существует в оксо-форме.



Нуклеозиды можно выделять из НК после химического или ферментативного гидролиза. Рибонуклеозиды можно получить химическим методом



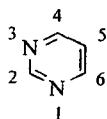
Дезоксирибонуклеозиды получают ферментативным методом. Для этой цели применяют змеинный яд, в котором содержатся ферменты – фосфодиэстераза и фосфомоноэстераза. При использовании химического гидролиза ДНК протекает ряд побочных процессов. Некоторые нуклеозиды встречаются в свободном виде и выделяются прямой экстракцией. Выделение и идентификацию нуклеозидов осуществляют методами ионооб-

менной, газо-жидкостной хроматографии, а также УФ, ЯМР и масс-спектрологии.

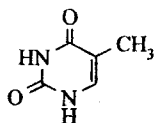
При кислотном гидролизе нуклеозидов образуются пиримидиновые или пуриновые гетероциклические основания и углевод (пентоза). Нуклеозиды не дают реакций на альдегидную группу, что говорит о гликозидном характере связи. Для установления структуры нуклеозиды, входящего в состав НК, определяют:

- 1) структуру гетероциклического основания;
- 2) структуру углевода;
- 3) тип связи между остатком гетероциклического основания и углеводным остатком (место соединения);
- 4) размер оксидного цикла углевода;
- 5) конфигурацию гликозидного (аномерного) центра.

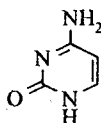
Обычно в состав ДНК входят остатки тимина и цитозина (производные пиримидина) и остатки аденина и гуанина (производные пурина). В состав РНК вместо тимина входит урацил.



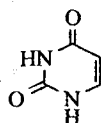
пиримидин
(м-диазин)



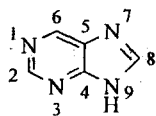
тимин



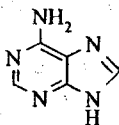
цитозин



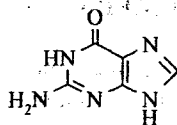
урацил



пурин

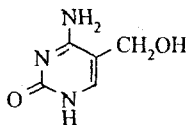


аденин

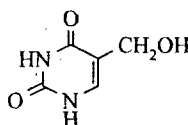


гуанин

В состав ДНК некоторых фагов вместо цитозина входит 5-гидрокси-метилцитозин (1) (Т-чётные фаги) или вместо тимина – 5-гидрокси-метилурацил (2) (фаг SP8)

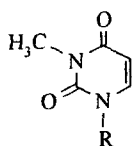


1

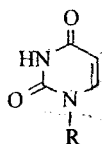


2

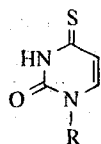
Урацил, тимин, цитозин, аденин и гуанин входят в виде соответствующих нуклеозидов в состав НК не менее 5 % от общего содержания оснований в НК. Эти соединения принято называть основными пиримидиновыми и пуриновыми основаниями НК. В некоторых видах ДНК и РНК были обнаружены различные производные урацила, цитозина, аденина и гуанина. Их обычно называют редкими, или минорными, и содержание каждого из них не превышает 1–2 %.



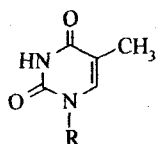
3-метилуридин



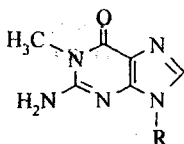
дигидроуридин



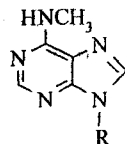
4-тиоуридин



риботимидин



1-метилгуанозин



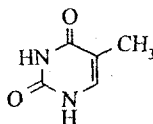
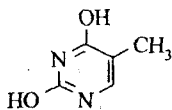
6-N-метиладенозин

R – остаток рибозы

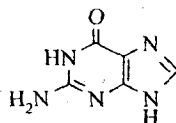
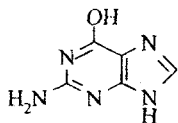
НОМЕНКЛАТУРА ПИРИМИДИНОВ И ПУРИНОВ

Для природных пиримидинов и пуринов часто используют тривиальные названия: урацил, цитозин, тимин, аденин, гуанин. Для синтетических оснований или модифицированных природных пиримидинов и пуринов используются названия по номенклатуре ИЮПАК с учётом нумерации атомов в пиримидиновом или пуриновом цикле.

Например, тимин – это 2,4-дигидрокси-5-метилпиримидин или 2,4-диоксо-5-метилтетрагидропиримидин



Гуанин – 2-амино-6-гидроксипурин или 2-амино-6-оксодигидропурин



Часто пользуются сокращёнными обозначениями при написании структурных формул нуклеозидов и их производных. Они приведены в табл. 1.

Таблица 1

Названия и сокращённые обозначения основных пиримидинов и пуринов, входящих в состав нуклеиновых кислот

Название	Сокращённое однобуквенное обозначение	Сокращённое трехбуквенное обозначение
Урацил (2,4-диоксотетрагидропиримидин)	U	Ura
Тимин (2,4-диоксо-5-метилтетрагидропиримидин)	T	Thy
Цитозин (2-оксо-4-аминодигидропиримидин)	C	Cyt
Аденин (6-аминопурин)	A	Ade
Гуанин (2-амино-6-оксодигидропурин)	G	Gua
Пиримидин	—	Py (Pyr)
Пурин	—	Pu (Pur)

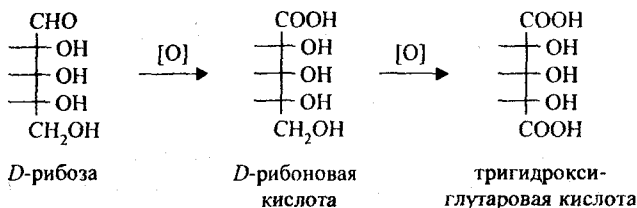
Сокращённые обозначения формул приведены согласно рекомендациям комиссии по номенклатуре Международного Союза по чистой и прикладной химии (IUPAC) и Международного Союза биохимиков (IUB) и принятым 3-м Всесоюзным рабочим совещанием по химии нуклеотидов.

УГЛЕВОДНЫЕ КОМПОНЕНТЫ НУКЛЕОЗИДОВ

Как было показано ранее, в нуклеозиды, выделенные из нуклеиновых кислот, входят только два моносахарида – *D*-рибоза или 2-дезоксид-*D*-рибоза, которые определяют тип нуклеиновой кислоты – РНК или ДНК.

В 1891 г. Коссель установил, что при гидролизе РНК (тогда этого названия ещё не существовало) образуется углевод, строение которого удалось выяснить через 18 лет и доказать как новый моносахарид – *D*-рибозу.

Этот моносахарид при окислении в определённых условиях претерпевал ряд следующих превращений:

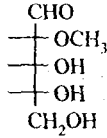


Окончательно строение *D*-рибозы было установлено её химическим синтезом и сравнением синтетической *D*-рибозы с полученной из нуклеозида РНК. Они оказались идентичными. Более трудная задача была при установлении моносахарида, входящего в состав нуклеозидов, из которых построена ДНК. Показано, что моносахарид, содержащий в них более лабилен, чем *D*-рибоза. Кроме того, он образует хорошо растворимый в воде гидразон и не даёт озона, что затрудняет выделение его из гидролизатов ДНК. Долгое время считали, что данный моносахарид – гексоза, так как при гидролизе нуклеозидов, полученных из ДНК, образуется левулиновая кислота $\text{CH}_3\text{—CO—(CH}_2\text{)}_2\text{—COOH}$. Лишь в 1929 г. после мягкого гидролиза гуанинового нуклеозида из ДНК был получен в кристаллическом виде углевод – дезоксирибоза. Строение его было полностью установлено после синтеза 2-дезоксид-рибозы. По свойствам эти препараты были идентичны, имели одинаковые по величине, но различные по знаку величины вращения плоскости поляризации. Таким образом, было доказано, что в состав ДНК входит моносахарид 2-дезоксид-рибоза.

Было также установлено, что мягкий кислотный гидролиз ДНК в присутствии бензилмеркаптана образует бензилмеркаптал 2-дезоксид-рибозы, который хорошо кристаллизуется.

В 50-х годах XX века хроматографическими методами было показано, что единственным моносахаридом в ДНК животного, растительного и бактериального происхождения является 2-дезоксид-рибоза. В 1954 г. 2-дезоксид-рибоза, полученная из различных типов ДНК, была охарактеризована сравнением с синтетической.

В конце 50-х годов XX века в некоторых препаратах РНК животного и растительного происхождения был обнаружен необычный углевод – 2-О-метил-*D*-рибоза:

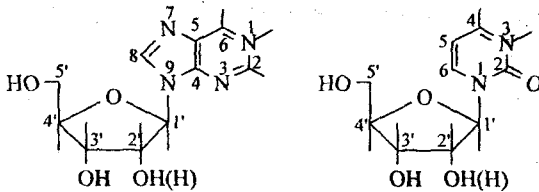


2-О-метил-*D*-рибоза

Он входит в состав РНК в очень небольших количествах, т. е. это минорный углеводный компонент РНК.

НОМЕНКЛАТУРА, СОКРАЩЁННЫЕ ФОРМУЛЫ НУКЛЕОЗИДОВ

Природные нуклеозиды являются 9-β-*D*-рибо- или 9-β-2'-дезоксид-*D*-рибофуранозидами аденина и гуанина, 1-β-*D*-рибо- или 1-β-2'-дезоксид-*D*-рибофуранозидами цитозина, урацила и тимина. Нумерация атомов в пиримидиновых и пуриновых нуклеозидах приведена ниже:



В табл. 2 и 3 приведены структурные формулы и названия основных нуклеозидов, входящих в состав РНК и ДНК. Также даны сокращённые буквенные обозначения для нуклеозидов с целью упрощения записи структурных формул НК и их крупных фрагментов. В табл. 4 приводятся структуры и названия некоторых минорных нуклеозидов, обнаруженных в составе ДНК и РНК.

Таблица 2

Структура, название и обозначение основных пиримидиновых и пуриновых нуклеозидов, выделенных из РНК

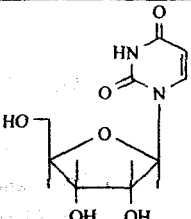

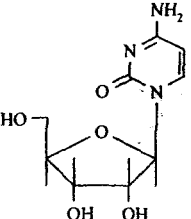

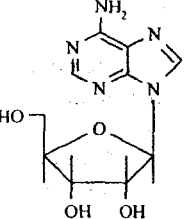

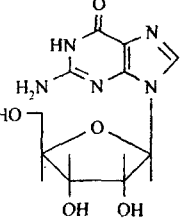

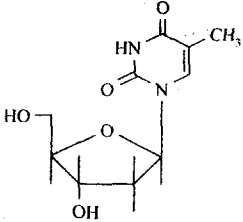
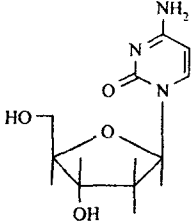
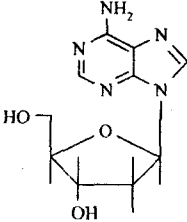
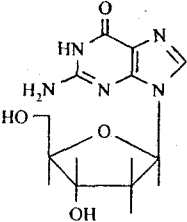
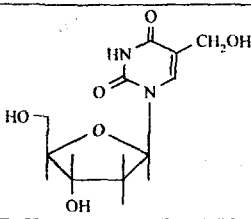
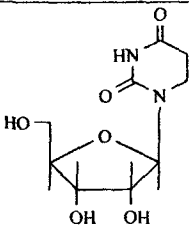
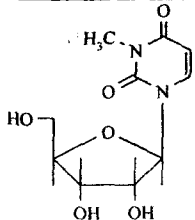
Структурная формула	Название	Сокращённая структурная формула	Сокращённое буквенное обозначение
1	2	3	4
	Уридин (1-β-D-рибофуранозилурацил)		U, Urd
	Цитидин (1-β-D-рибофуранозилцитозин)		C, Cyt
	Аденозин (9-β-D-рибофуранозиладенин)		A, Ado
	Гуанозин (9-β-D-рибофуранозилгуанин)		G, Guo

Таблица 3

Структура, название и обозначение основных пиримидиновых и пуриновых нуклеозидов, выделенных из ДНК

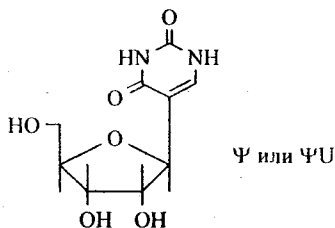
Структурная формула 1	Название 2	Сокращённое обозначение 3
	Дезокситимидин (1-β-2'-дезоксид- <i>D</i> - рибофуранозилтимин)	dT, dThd
	Дезоксицитидин (1-β-2'-дезоксид- <i>D</i> - рибофуранозилцитозин)	dC, dCyd
	Дезоксиаденозин (9-β-2'-дезоксид- <i>D</i> - рибофуранозиладенин)	dA, dAdo
	Дезоксигуанозин (9-β-2'-дезоксид- <i>D</i> - рибофуранозилгуанин)	dG, dGuo

Структура и название некоторых минорных нуклеозидов, обнаруженных в составе ДНК и РНК

Структурная формула	Название	Сокращённое обозначение
1	2	3
	<p>5-Гидроксиметил- дезоксуридин (1-β-2'-дезоксид- рибофуранозил- 5-гидроксиметилурацил)</p>	<p>выделен из фага SP8, заменяет дезокситимидин</p>
	<p>Дигидроуридин (1-β-D-рибофуранозил- 5,6-дигидроурацил)</p>	<p>D или hU</p>
	<p>3-Метилуридин (1-β-D-рибофуранозил- 3-метилурацил)</p>	<p>m³U</p>

Кроме основных и минорных нуклеозидов с N-гликозидной связью в состав некоторых РНК входит в значительных количествах нуклеозид с C-гликозидной связью – псевдоуридин, который был обнаружен в 1951 г., но для расшифровки его структуры потребовалось 10 лет.

Псевдоуридин является 5-β-D-рибофуранозилурацилом:

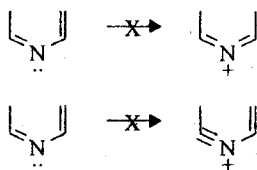


СВОЙСТВА НУКЛЕОЗИДОВ

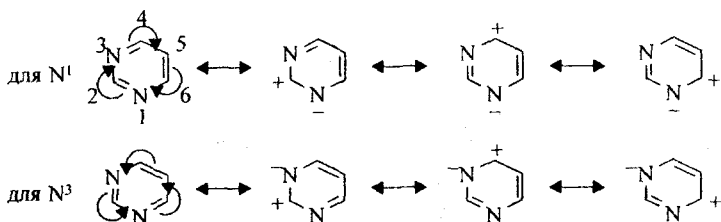
Общие представления

Молекула пиримидина – ароматическая система, в которой атомы углерода обеднены электронами за счёт электроотрицательности атомов азота (по шкале Полинга электроотрицательность атома азота равна 3, атома углерода – 2,4). Составляющие данного влияния – индукционный и мезомерный эффекты. Индукционный эффект в пиримидине проявляется наиболее сильно в положениях 2, 4 и 6. Положение 5 оказывается обеднённым электронами в меньшей степени.

Мезомерный эффект может проявляться только в одном направлении – смещении электронов к атому азота, иначе должны были бы получиться шестичленные циклические структуры с кумулированной системой кратных связей или с тройной связью.

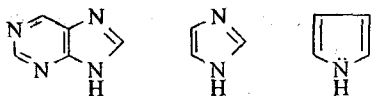


Электронооттягивающее мезомерное влияние атомов азота N^1 и N^3 можно представить следующими граничными структурами:

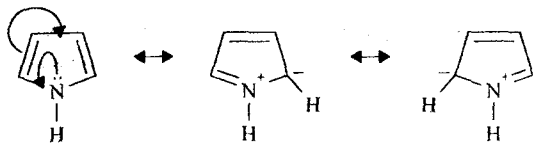


Приведённые мезомерные структуры свидетельствуют о том, что в положениях 2, 4 и 6 на атомах углерода создаётся дефицит электронов. Следовательно, пиримидиновое ядро устойчиво к действию электрофильных агентов в большей степени, чем пиридиновое. Единственным местом для атаки электрофильного реагента является положение 5, поэтому его называют ароматическим. Естественно, что положения 2, 4 и 6 реакционноспособны к действию нуклеофильных реагентов. Экспериментальных данных, подтверждающих эти принципы на незамещённых пиримидинах, очень мало, так как пиримидин – труднодоступное вещество. Наиболее изучены производные пиримидина, реакции которых более сложны, но подчиняются тем же основным принципам.

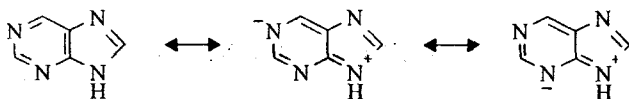
При рассмотрении пуринового ядра следует сделать сравнение между имидазольным и пиррольным циклами:



В пирроле неподелённая пара электронов атома азота участвует в образовании ароматического секстетта, т. е. подаётся в цикл. Распределение электронной плотности в пиррольном цикле можно изобразить с помощью следующих мезомерных граничных структур:



Как видно из данных структур, электрофильное замещение для пиррола легче всего протекает в α -положения. Таким образом, в пуриновом ядре пириимидиновый цикл является π -электроноизбыточным. Можно ожидать, что положения 2 и 6 в пурине химически подобны положениям 2 и 4 пириимидина. Положение 8 можно сравнить с α -положением в пирроле. Однако при этом следует учитывать, что в пуринах имеет место перекрывание π -электронных облаков обеих моноциклических систем и что истинное распределение электронной плотности в каждом цикле может измениться в результате подачи электронов имидазольным циклом в пириимидиновый

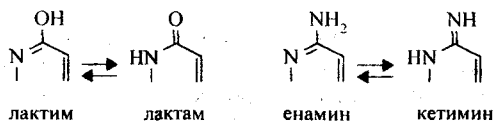


Если в пириимидиновой части пуринового ядра есть электронодонорные группы, то электронная плотность в имидазольной части возрастает.

Цикл пириимидина и ядро пурина плоские, и в каждом из них секстет электронов образует области повышенной электронной плотности над и под плоскостью циклов.

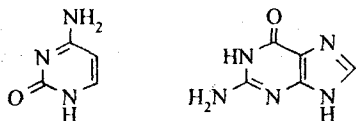
Таутомерия

Так как в состав НК входят гидрокси- и аминопроизводные пурина и пириимидина, то для них возможны два типа таутомерных превращений — лактим-лактаминный и енамин-кетиминный:



Для гидроксипроизводных, находящихся в лактамной форме, имеется возможность образования новой ароматической системы за счёт неподелённой электронной пары атомов «амидного» азота. Разрыва сопряжения в месте карбонильного углеродного атома нет, так как в системах $C=C-C(=O)-C=C$ имеется как прямое, так и кросс-сопряжение. Второй причиной, действующей в пользу лактамной формы, является большее сродство к протону атома азота, чем кислорода.

В случае аминопроизводных сделать выбор между енаминой и кетиминной формами из общих соображений труднее, но на основании приведённых выше рассуждений предпочтение следует отдать енаминной форме. Следовательно, для цитозина и гуанина предпочтительной таутомерной формой будет лактам-енаминная:

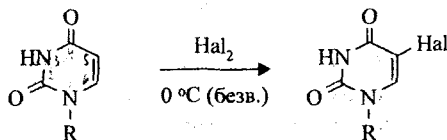


КОНКРЕТНЫЕ РЕАКЦИИ

Реакции с электрофильными реагентами

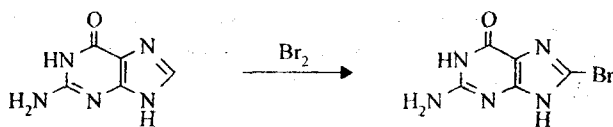
Реакции замещения у атомов углерода

Из реакций этого типа чаще всего используется *галогенирование*. Под действием свободных галогенов в безводной среде происходит непосредственное замещение атома водорода (при C⁵) в пиримидиновых нуклеозидах



Реакция протекает в мягких условиях и с практически количественным выходом. Таким путем были получены 5-хлор- и 5-бромпроизводные уридина и цитидина. Иодирование протекает в более жёстких условиях – при нагревании и в присутствии азотной кислоты, которая, по-видимому, необходима для удаления йодоводорода. Если использовать хлорид иода ICl, реакция протекает в значительно более мягких условиях. В присутствии воды присоединение идёт по двойной связи C⁵=C⁶.

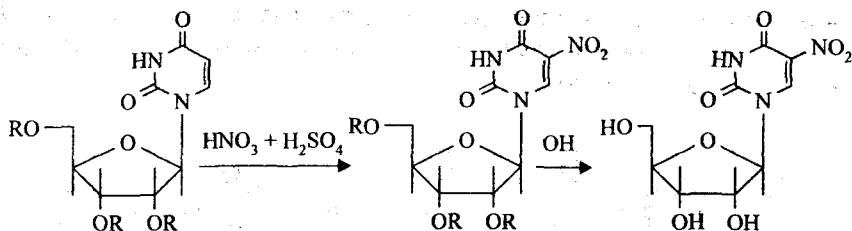
В случае пуриновых нуклеозидов галогенирование протекает как в водных, так и безводных растворителях, так как здесь невозможна конкурирующая реакция присоединения по двойной связи C⁵=C⁶:



R – остаток рибозы

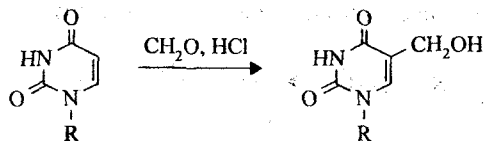
Гуанозин галогенируется значительно легче, чем аденозин. 8-Галогенпурины – очень неустойчивые соединения и в условиях галогенирования легко расщепляются с разрывом имидазольного цикла.

Нитрование нуклеозидов осуществляется в более жёстких условиях (повышенная температура, нитрующая смесь). В связи этим в нуклеозидах заранее защищают от окисления гидроксигруппы углеводного остатка.



R = COC₆H₃(NO₂)₂-3,5

Восстановлением 5-нитропроизводных получают соответствующие 5-аминозамещённые нуклеозиды. При нагревании уридина с формальдегидом CH₂O в присутствии хлороводорода HCl происходит его 5-гидроксиметилирование.



R – остаток рибозы

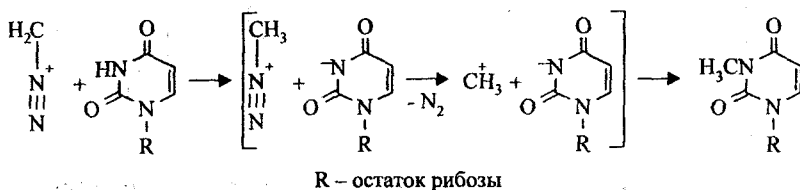
Цитидин в этих условиях не подвергается гидроксиметилированию. В присутствии гидрохлоридов вторичных аминов и формальдегида происходит аминотетилирование.

5-Гидроксиметил- и 5-аминометилпроизводные могут быть превращены в соответствующие 5-метилнуклеозиды гидрированием над платиновым или родиевым катализаторами.

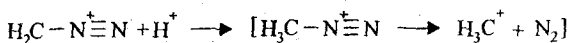
Реакции замещения у атомов азота

Из превращений этого типа наиболее характерными и достаточно распространёнными являются реакции алкилирования диазометаном, алкилгалогенидами, алкилсульфатами. Хорошо изучены также реакции присоединения по поляризованным связям C=C и C=N и образование N-оксидов.

Метилирование. Характер реакции метилирования диазометаном CH_2N_2 зависит от растворителей. Так, в инертных растворителях основным процессом является замещение на метильную группу атома водорода, обладающего наиболее кислыми свойствами. Так, для уридина реакция идёт по следующей схеме:

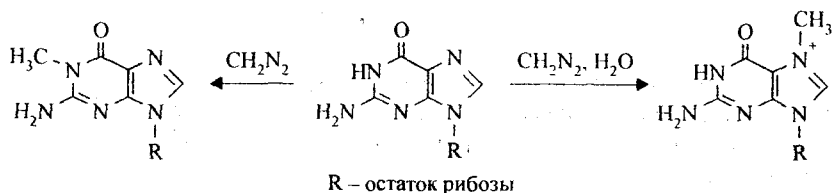


Если в реакционной смеси имеются и другие доноры протона, то метилирование пиримидинового цикла и пуринового ядра протекает по месту с наибольшей электронной плотностью, поскольку в процессе реакции диазометан превращается в электрофильную частицу

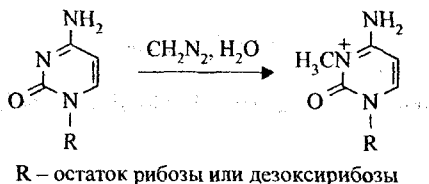


без участия гетероциклического основания.

Так, при обработке диазометаном суспензии гуанозина в эфире образуется N¹-метилгуанозин; при реакции же в водно-эфирной среде получается N⁷-метилгуанозин:



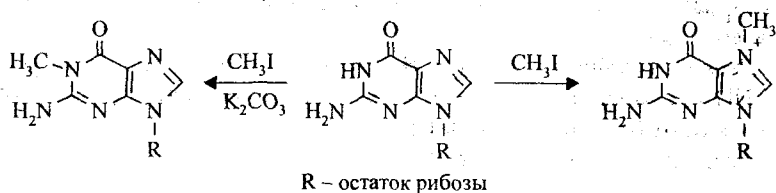
Метилирование урацильных нуклеозидов по гетероциклу протекает во всех случаях только по N³; цитозиновые нуклеозиды метилируются только в присутствии воды с образованием N³-замещённых:



Способность нуклеозидов взаимодействовать с диазометаном в водно-эфирных растворах падает в ряду: гуанозин ≈ уридин > цитидин > аденозин.

Кроме диазометана для метилирования оснований используют метилиодид CH₃I и диметилсульфат (CH₃)₂SO₄. При обработке этими реагентами в нейтральной среде гуанозин, аденозин и цитидин метилируются, уридин и тимидин не вступают в реакцию.

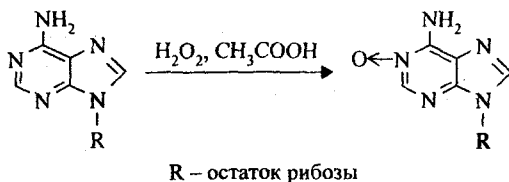
Гуанозин алкилируется с образованием N⁷-метилгуанозина; однако в присутствии карбоната калия K₂CO₃ основным продуктом реакции является N¹-метилгуанозин.



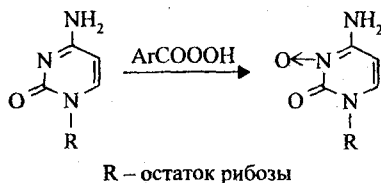
Легкость метилирования метилиодидом и диметилсульфатом падает в ряду: гуанозин > аденозин > цитидин >> уридин.

Реакции образования N-оксидов

Гетероциклические основания в нуклеозидах окисляются пероксокислотами с образованием N-оксидов. Так, окисление аденозина под действием пероксида водорода H_2O_2 и уксусной кислоты CH_3COOH приводит к N¹-оксиду:



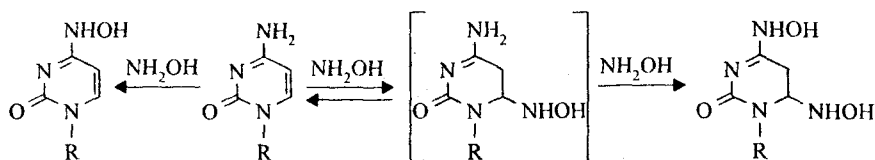
Цитидин окисляется арилкарбовыми пероксокислотами с образованием N³-оксида:



Реакции с нуклеофильными реагентами

Реакции гетероциклических оснований с нуклеофильными агентами приводят к замещению функциональных групп (как правило, аминных) в пиримидиновом цикле или в пуриновом ядре. Наиболее известны реакции с гидроксиламином, O-алкилгидроксиламинами, а также гидразином и его производными.

Реакция с гидроксиламином. В зависимости от pH среды гидроксилламин NH_2OH избирательно реагирует с различными основаниями нуклеиновых кислот (и их остатками). При кислых и нейтральных значениях pH он реагирует с остатком цитозина:



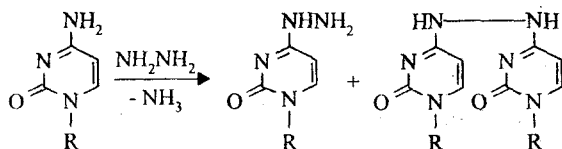
R – остаток рибозы

Самой быстрой стадией превращения является нуклеофильное присоединение гидроксилamina по двойной связи $\text{C}^5=\text{C}^6$. Последующее нуклеофильное замещение у C^4 приводит как к ди(гидроксиамино)-, так и к моно(гидроксиамино)производным цитозина. Скорость реакции максимальна при pH 5–6; это говорит о том, что цитидин реагирует в протонированной форме, а гидроксилamin ($\text{p}K_a$ 6,5) – как свободное основание. Значительно медленнее гидроксилamin и O-метилгидроксилamin реагируют с аденозином (оптимальное значение pH 4–5). При этом образуются исключительно продукты замещения аминогруппы на гидроксиамино- или O-метилоксиаминогруппу.

Аминогруппа в гуанозине гидроксилaminом и его O-алкилпроизводными, по-видимому, не модифицируется. С уридином реагирует только гидроксилamin и только в щелочной среде. Эта реакция приводит к расщеплению гетероцикла.

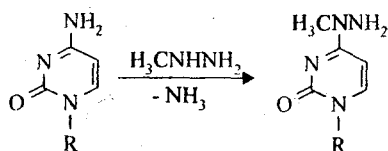
Другой группой нуклеофильных реагентов является гидразин NH_2NH_2 и его производные. Реакции проводят в водной среде, причём их механизм существенно зависит от pH среды.

Нуклеофильное замещение протекает только при pH 7, при этом реагируют лишь цитозиновые нуклеозиды с образованием моно- и дизамещённых гидразинов:



R – остаток рибозы или дезоксирибозы

В аналогичных условиях протекает реакция с монометилгидразином CH_3NHNH_2 , причём образуется только один продукт:

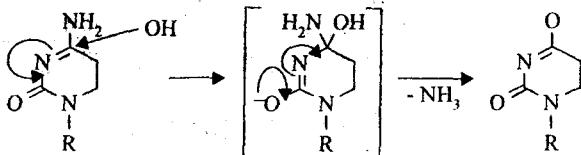


R – остаток рибозы

Пуриновые нуклеозиды, а также уридин и тимидин, в описанных условиях не реагируют с гидразином и его производными. В щелочной среде или в безводных растворителях гидразин расщепляет производные урацила и цитозина; пуриновые нуклеозиды при этом практически не затрагиваются.

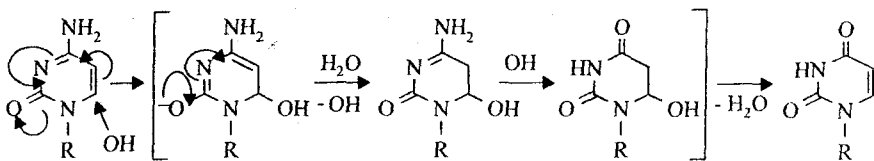
Помимо рассмотренных выше реакций нуклеофильное замещение аминогрупп гетероциклических оснований протекает под действием щелочи и аминов.

Известно, что с наибольшей лёгкостью дезаминируется под действием щёлочи 5,6-дигидроцитидин, вероятно, по следующей схеме:



R – остаток рибозы

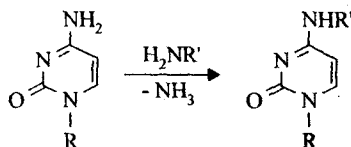
В случае цитидина дезаминированию, очевидно, предшествует гидратация, затем происходит дезаминирование, далее дегидратация с образованием уридина.



R – остаток рибозы

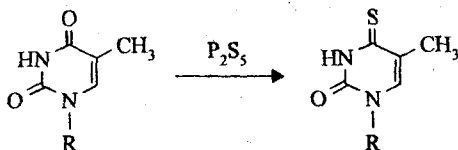
5-Метилдезоксцитидин в аналогичных условиях реагирует медленнее дезоксицитидина, что хорошо согласуется с механизмом реакции. Для дезаминирования аденозина требуются очень жёсткие условия.

В водных растворах протекает переаминирование цитидина и дезоксицитидина:



R – остаток рибозы или дезоксирибозы, R' = Ar

Реакции нуклеофильного замещения широко используются в синтетической химии нуклеозидов. Замена карбонильного кислорода (например, в производных урацила) на серу также относится к реакции нуклеофильного замещения. Например:



R – остаток рибозы

Полученные замещённые производные могут использоваться для получения как основных природных нуклеозидов, так и их различных аналогов.

Широко используются реакции нуклеофильного замещения для модификации пиримидиновых и пуриновых оснований с последующим рибозилированием и получением природных нуклеозидов и их аналогов.

Реакции присоединения

Данные реакции характерны для пиримидиновых производных по связи C⁵=C⁶. Наиболее изученной реакцией является галогенирование урацильных и цитозиновых нуклеозидов в водной среде. Реакция протекает в несколько стадий и приводит в определённых условиях к присоединению двух атомов брома и гидроксила:



Скорости отдельных стадий превращения различны, и можно получать также 5-бром-6-гидрокси-5,6-дигидропроизводное. Аналогично по двойной связи $C^5=C^6$ присоединяется гидросульфит-ион.

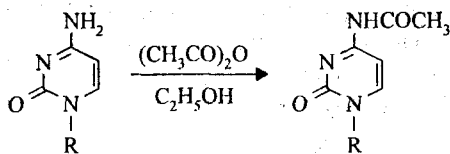
Двойная связь $C^5=C^6$ в пиримидиновых нуклеозидах легко гидрируется в присутствии различных катализаторов: родия на оксиде алюминия, платины, палладия.

В случае цитидина реакция не останавливается на стадии присоединения 1 моль водорода, а происходит дальнейшее восстановление, поэтому для получения 5,6-дигидроцитидина необходим тщательный контроль за ходом процесса.

Пуриновые нуклеозиды устойчивы к гидрированию.

Реакции по экзоциклическим аминогруппам

Значения pK_a аминогрупп цитозиона, аденина и гуанина находятся в интервале 2,5–4, что напоминает ароматические амины, которые содержат в ядре электроноакцепторные заместители, например, *n*-нитроанилин. Однако реакции с электрофильными реагентами протекают по аминогруппам оснований достаточно легко. Эти реакции широко используются при синтезе различных производных нуклеозидов. Из трёх основных нуклеозидов, содержащих аминогруппы в гетероциклических основаниях, наиболее легко вступает в реакцию ацилирования цитидин (кипячение с эквимолярным количеством уксусного ангидрида):

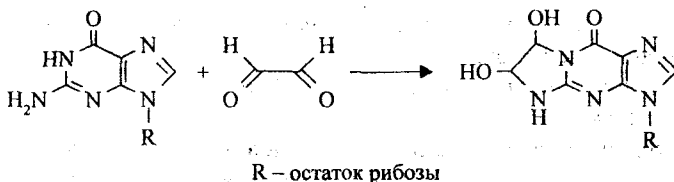


R – остаток рибозы

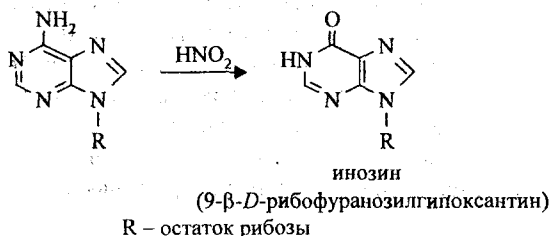
Строение продуктов ацелирования доказано с помощью УФ, ИК и ЯМР спектроскопии.

При проведении реакции в присутствии пиридина в жёстких условиях (избыток ацилирующего реагента, высокая температура) ацилируются не только аминогруппы гетероцикла, но и гетероциклический азот, а также гидроксигруппы углеводного остатка.

Важной реакцией с участием аминогруппы является взаимодействие соответствующих нуклеозидов с альдегидами. В реакцию с глиоксалем вступает только гуанозин и его производные:



Для нуклеозидов, содержащих аминогруппы в гетероцикле, характерной является реакция с азотистой кислотой:

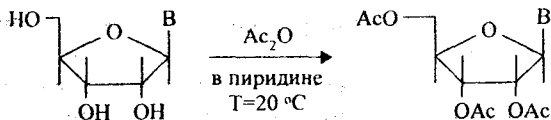


Дезаминированием гуанозина и цитидина получают, соответственно, ксантозин и уридин.

Реакции по углеводному фрагменту

1) Замещение атомов водорода в гидроксильных группах.

Ацилирование. Нуклеозиды реагируют с ангидридами и хлорангидридами кислот в безводном пиридине при комнатной температуре с образованием полностью ацилированных по углеводному остатку нуклеозидов, например:



В случае цитидина в этих условиях ацилируется также аминогруппа основания. В дезокси-нуклеозидах легче ацилируется первичная гидроксильная группа, поэтому удаётся получить в мягких условиях 5'-моноацетильные производные.

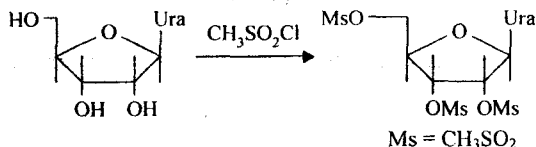
Ацетилирование 5'-замещённых аденозина и уридина приводит к смеси 2',5'- и 3',5'-диацетильных производных. При нагревании её с безводным пиридином или с водой происходит 2' → 3'-изомеризация, в результате с почти количественным выходом образуется 3',5'-ди-О-ацетилнуклеозид.

Щелочной гидролиз О-ацилнуклеозидов позволяет удалять ацильные группы в мягких условиях. Сложноэфирная связь расщепляется легко также при обработке щелочным раствором гидроксилamina.

Очень широко изучалось аминоацелирование рибонуклеозидов и использование их в качестве моделей 3'(2')-О-аминоацил-тРНК.

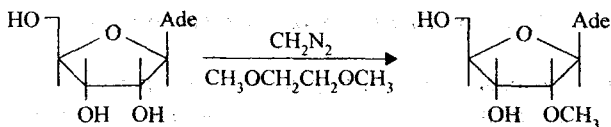
Здесь необходимо, чтобы активация аминокислот была достаточно эффективной для реакции с гидроксилами рибозного остатка. В среде абсолютных растворителей, помимо гидроксильных рибозы, только аминогруппа цитозина реагирует с ангидридами, имидазолидами и активными эфирами *N*-защищённых *L*-α-аминокислот.

Гидроксильные группы углеводного остатка в нуклеозидах могут ацилироваться также производными неорганических кислот:

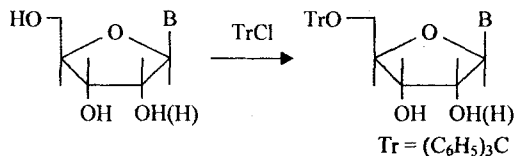


2) Алкилирование (CH_2N_2 , CH_3I).

Наиболее легко алкилируется 2'-гидроксильная группа. Избирательное 2'-О-метилирование удаётся провести при нагревании аденозина или цитидина с CH_2N_2 в водном растворе 1,2-диметоксиэтана:



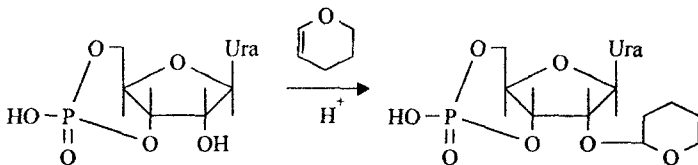
Алкилирование нуклеозидов трифенилметилхлорметаном $(C_6H_5)_3CCl$ избирательно по первичной гидроксильной группе:



Только в случае уридина наряду с 5'-О-монотритильным [5'-О-моно(трифенилметильным)] производным образуется 2',5'-О-дитритил-уридин.

Трифенилметилэфиры расщепляются при действии разбавленной хлороводородной или уксусной кислот.

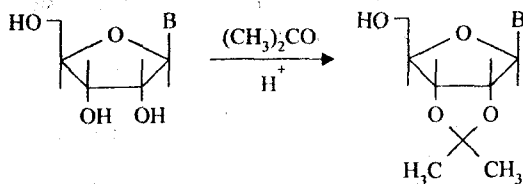
Для удаления тритильной группы под действием 80 %-ной уксусной кислоты при 20 °С требуется несколько дней. Другой достаточно распространённой реакцией является алкилирование виниловыми эфирами с образованием ацеталей. Впервые эта реакция описана на примере взаимодействия уридин-3',5'-циклофосфата с дигидропираном:



Реакцию проводят в органических растворителях в присутствии сухого хлороводорода. Тетрагидропиранильная группа удаляется при мягком кислотном гидролизе. Аналогично проходит реакция с 2-метоксипропаном.

Реакции с карбонильными соединениями

Рибонуклеозиды очень легко реагируют с альдегидами и кетонами в присутствии кислотных катализаторов с образованием ацеталей или кеталей. Наиболее распространённой является реакция с ацетоном:



Кетали и ацетали легко расщепляются в слабокислой среде. Эта реакция широко используется для избирательной защиты 2'- и 3'-гидроксильных групп в рибонуклеозидах.

ПРАКТИЧЕСКАЯ ЧАСТЬ

2,'3'-О-ИЗОПРОПИЛИДЕНУРИДИН (2 СПОСОБА)

1 способ

Уридин – 1 г (4 ммоль),
абсолютный ацетон – 50 мл,
2,2-диметоксипропан – 2,5 мл,
абсолютный метанол.

1 г уридина высушивают в вакууме в течение 10–12 ч при 100 °С над оксидом фосфора (V) и добавляют к нему 25 мл абсолютного ацетона, 2,5 мл свежеперегнанного 2,2-диметоксипропана (примечание 1) и 1 каплю концентрированной серной кислоты. Перемешивают с помощью магнитной мешалки без доступа влаги в течение 4 ч (примерно через 30 мин после начала перемешивания уридин полностью растворяется). По окончании перемешивания реакционную смесь нейтрализуют раствором аммиака в метаноле (примечание 2). Осадок отфильтровывают и промывают 1 мл абсолютного ацетона. Фильтрат упаривают досуха и перекристаллизовывают из абсолютного метанола. После двух перекристаллизаций получают 0,7 г 2,'3'-О-изопропилиденуридина. Т. пл. 163–165 °С. Вещество хроматографически однородно: R_f 0,78 на бумаге в системе *n*-бутанол–вода (86:14), 0,20 при ТСХ на оксиде алюминия в системах хлороформ–метанол (5:1) и хлороформ–ацетон (1:1) и, в отличие от уридина, не даёт реакции на *цис*-гликольную группировку.

Из маточников после перекристаллизации можно выделить дополнительное количество 2,'3'-О-изопропилиденуридина. Для этого маточники упаривают, полученный сироп растворяют в 1 мл абсолютного ацетона. После стояния в течение ночи выпадает непрореагировавший уридин. Его отделяют, а фильтрат пропускают через колонку с 15 г оксида алюминия для хроматографии. Ацетоном смывают смолистые продукты, а затем смесью ацетон–метанол (2:1) – 2,'3'-О-изопропилиденуридин. Процесс контролируют, нанося пробы элюата на бумагу и просматривая их на ультрахемископе. Фракции, содержащие 2,'3'-О-изопропилиденуридин, упаривают досуха, остаток растирают с эфиром и отфильтровывают. Получают ещё около 0,25 г 2,'3'-О-изопропилиденуридина.

Примечание 1. 2,2-Диметоксипропан может быть заменён 2,2-диэтоксипропаном.

Примечание 2. Раствор аммиака в метаноле получают, пропуская ток осушенного NH_3 в охлаждаемый льдом абсолютный метанол.

2 способ

Уридин – 4 г (16 ммоль),
абсолютный ацетон – 100 мл,
сульфат меди (II) безводный – 8 г.

4 г уридина высушивают в пистолете Фишера в течение 10–12 ч при 100 °С, суспендируют в 100 мл абсолютного ацетона и добавляют 8 г безводного сульфата меди (II) и 0,1 мл концентрированной серной кислоты. Суспензию перемешивают 48 ч при 37 °С. Осадок отделяют, промывают 2–3 раза небольшим количеством ацетона и объединённый фильтрат встряхивают в течение 1 ч с 4 г сухого гидроксида кальция. Осадок отфильтровывают и промывают ацетоном, фильтрат упаривают досуха и остаток дважды перекристаллизовывают из метанола.

Выход 3,2 г (70 %). Т. пл. 163–165 °С.

5'-О-ТРИТИЛУРИДИН

Уридин – 1 г (4 ммоль);
трифенилхлорметан – 1,2 г (4,1 ммоль);
абсолютные пиридин, хлороформ, бензол, сухой петролейный эфир.

Раствор 1 г уридина в 10 мл абсолютного пиридина упаривают на ротном испарителе, добавляют ещё 10 мл пиридина и вновь упаривают. К оставшемуся маслу добавляют 11 мл абсолютного пиридина и 1,2 г трифенилхлорметана (примечание 1) и кипятят раствор с обратным холодильником в течение 3 ч. После охлаждения раствор выливают в 150 мл воды со льдом. Смесь экстрагируют хлороформом (3×20 мл). Хлороформные вытяжки промывают насыщенным раствором хлорида натрия (2×20 мл), затем водой (3×15 мл), высушивают безводным сульфатом натрия и упаривают при пониженном давлении. Освобождённую от пиридина сиропообразную массу растворяют в 5 мл абсолютного бензола и выливают в 50 мл

сухого петролейного эфира (т. кип. 30–50 °С). Выход 1,4 г (70 %).

Примечание 1. Перед употреблением трифенилхлорметан обязательно перекристаллизовывают, растворяя в минимальном количестве абсолютного бензола с добавлением ацетилхлорида и выливая в абсолютный петролейный эфир. Т. пл. 112–113 °С.

5'-О-ТРИТИЛТИМИДИН

Тимидин – 0,5 г (2,06 ммоль);
трифенилхлорметан – 0,7 г (2,4 ммоль);
абсолютные пиридин, хлороформ, сухой петролейный эфир.

0,5 г тимидина растворяют в 5–7 мл абсолютного пиридина и упаривают досуха. Операцию повторяют 3–4 раза. Наконец, тимидин растворяют в 10 мл абсолютного пиридина, добавляют 0,7 г трифенилхлорметана и оставляют без доступа влаги на 7 дней. После этого раствор выливают при перемешивании в 100 мл ледяной воды. Осадок отфильтровывают и промывают холодной водой. Если продукт выпадает из воды в виде масла, то его растворяют в хлороформе, водный раствор также экстрагируют хлороформом. Объединённые хлороформные вытяжки сушат безводным сульфатом магния, упаривают до 2–3 мл и выливают при перемешивании в 50–70 мл сухого петролейного эфира. Осадок отфильтровывают и промывают сухим петролейным эфиром.

Для очистки 5'-О-тритилтимидин растворяют в 2–3 мл абсолютного хлороформа и раствор выливают в 50–70 мл сухого петролейного эфира. Выход 0,6 г (60 %). Т. пл. 128 °С.

5'-О-ТРИТИЛАДЕНОЗИН

Аденозин – 1 г (3 ммоль),
трифенилхлорметан – 1,08 г (3,8 ммоль),
абсолютный пиридин.

В двугорлую колбу емкостью 100 мл, снабжённую механической мешалкой и обратным холодильником, закрытой хлоркальциевой трубкой, помещают 1 г аденозина, перекристаллизованного из воды и высушенного

над оксидом фосфора (V) в пистолете Фишера (при 110 °С), 1,08 г трифенилхлорметана и 12 мл абсолютного пиридина. Смесь нагревают при перемешивании на глицериновой бане при 90–95 °С в течение 3 ч. Затем температуру бани поднимают до 105 °С. Реакционную смесь выдерживают при этой температуре 5–10 мин, а затем фильтруют в горячем виде через стеклянный фильтр. По охлаждению из фильтрата начинает выпадать осадок. Для полноты осаждения смесь оставляют на ночь в холодильнике (примечание 1). Выпавший осадок отфильтровывают, промывают небольшими порциями бензола, абсолютного этанола и сушат в вакуум-эксикаторе.

Выход 1 г (50 %). Т. пл. 254 °С. Вещество однородно хроматографически в системе изопропанол–конц. аммиак–вода (7:1:2) и проявляется в виде жёлтого пятна после опрыскивания 20–30 %-ной хлорной кислотой и нагревания при 100 °С (примечание 2).

Примечание 1. Если осадок не выпадает, пиридиновый раствор выливают при перемешивании в ледяную воду (около 100 мл), экстрагируют хлороформом. Хлороформные вытяжки сушат безводным сульфатом натрия и упаривают досуха.

Примечание 2. Так как полученный 5'-О-трифилладенозин может содержать примесь трифенилкарбинола, определяют чистоту препарата. Для этого навеску (около 1,5 мг) растворяют в этаноле, переносят количественно в мерную колбу на 50 мл и доводят объём до метки этанолом. Измеряют на спектрофотометре УФ-поглощение полученного раствора при 260 и 290 нм и содержание определяют по формуле:

$$\text{Содержание (\%)} = (D_{260} - D_{290}) \cdot 509 \cdot 100 / \text{навеска}$$

5'-О-МОНОМЕТОКСИТРИТИЛУРИДИН

Уридин – 244 мг (1 ммоль);
монометокситритилхлорид (*n*-анизилдифенилхлорметан) – 463 мг
(1,5 ммоль);
сульфат натрия безводный;
абсолютные пиридин, этилацетат, бензол.

244 мг уридина высушивают в пистолете Фишера при 100 °С в течение 10–12 ч, растворяют в 5 мл абсолютного пиридина, добавляют 463 мг

монометокситритилхлорида и выдерживают при 25 °С в течение 48 ч. Пиримидин удаляют в вакууме, остаток растворяют в этилацетате, промывают водой и сушат безводным сульфатом натрия. Растворитель отгоняют и остаток кристаллизуют из бензола (около 10 мл). Выход 600 мг (95 %). Т. пл. 103–105 °С (с разл.).

2',3'-О-ЭТОКСИМЕТИЛЕНУРИДИН

Уридин – 2,44 г (0,01 моль);
этилортомуравьиный эфир – 5,6 мл (0,04 моль);
4,7 М раствор хлороводорода в диметилформамиде – 0,2 мл;
абсолютные диметилформамид, диоксан, хлороформ, диэтиловый эфир, сухой петролейный эфир.

Раствор 2,44 г уридина в 30 мл абсолютного диметилформамида помещают в круглодонную колбу на 100 мл и добавляют последовательно 5,6 мл этилортомуравьиного эфира и 0,7 мл 4,7 М раствора безводного хлороводорода в диметилформамиде. Смесь выдерживают при комнатной температуре 20 ч, за реакцией следят с помощью хроматографии в системе изопропанол–конц. аммиак–вода (7:1:2), встряхивают с 4,2 г (0,05 моль) гидрокарбоната натрия в течение 30 мин при комнатной температуре. Осадок отфильтровывают и промывают 10 мл диметилформамида, фильтраты упаривают при температуре бани 35–40 °С. К оставшемуся сиропу добавляют абсолютный диоксан и упаривают. Остаток растворяют в 50 мл диоксана и фильтруют через стеклянный фильтр. Прозрачный фильтрат смешивают с 50 мл воды, смесь выдерживают при комнатной температуре 2 ч и упаривают при температуре бани около 20 °С. Остаток упаривают с диоксаном и получают 2',3'-О-этоксиметиленуридин в виде сиропа с количественным выходом. Вещество исследуют хроматографически, R_f 0,72 в системе изопропанол–конц. аммиак–вода (7:1:2). Для получения аналитически чистого 2',3'-О-этоксиметиленуридина сироп растворяют в 10 мл хлороформа и полученный раствор добавляют при перемешивании к 200 мл диэтилового эфира. Затем добавляют осторожно равный объем петролейного эфира. Выпавший осадок отфильтровывают, промывают 50 мл петролейного эфира и высушивают в вакуум-эксикаторе.

Выход 2,2 г (77 %).

2',3'-О-ЭТОКСИМЕТИЛЕНАДЕНОЗИН

Аденозин – 5,34 г (0,02 моль);
этилортомуравьиный эфир – 10,5 мл (0,06 моль);
5,65 М раствор хлороводорода в диметилформамиде – 4,4 мл;
триэтиламин, абсолютный диметилформамид.

Смесь 5,34 г аденозина, предварительно высушенного в пистолете Фишера, 100 мл абсолютного диметилформамида, 6,7 мл этилортомуравьиного эфира и 4,4 мл (0,025 моль) 5,65 М раствора безводного хлороводорода в диметилформамиде (примечание 1) помещают в круглодонную колбу на 250 мл и встряхивают при комнатной температуре до полного растворения аденозина. Полученный раствор выдерживают при комнатной температуре 3 дня (примечание 2), причём через 24 и 48 ч добавляют по 1,67 мл (0,025 моль) этилортомуравьиного эфира. Затем к смеси добавляют 5 мл (0,036 моль) триэтиламина и охлаждают до 0 °С. Отфильтровывают осадок гидрохлорида триэтиламина и промывают 5 мл диметилформамида. Фильтрат упаривают досуха (температура бани не выше 40 °С). К полученному сиропу добавляют 20 мл воды и две капли триэтиламина и смесь оставляют на ночь при 0 °С. Выпавший продукт отфильтровывают и высушивают в вакуум-эксикаторе. Выход 5,88 г (91 %). Вещество можно перекристаллизовать из этанола Т. пл. 228–230 °С.

Примечание 1. Раствор получают пропусканием сухого хлороводорода в абсолютный диметилформамид, охлаждаемый льдом. Если образуется осадок, его растворяют добавлением новой порции диметилформамида.

Примечание 2. За ходом реакции наблюдают с помощью хроматографии в системе изопропанол–конц. аммиак–вода (7:1:2). Перед хроматографированием пробу реакционной смеси подщелачивают триэтиламином. Реакцию заканчивают, когда на хроматограмме не обнаруживают исходного аденозина (R_f 0,48).

N-БЕНЗОИЛДЕЗОКСИАДЕНОЗИН

Дезоксиаденозин – 1,25 г (5 ммоль);
бензоилхлорид – 2,5 мл (22,5 ммоль);
абсолютные пиридин, диэтиловый эфир, хлороформ.

1,25 г сухого дезоксиаденозина суспендируют в 10 мл абсолютного пиридина и упаривают досуха. Операцию повторяют 3–4 раза. Затем дезоксиаденозин вновь суспендируют в 15 мл абсолютного пиридина, добавляют 2,5 мл бензоилхлорида и оставляют на 2 ч при комнатной температуре. Раствор выливают в 200 мл ледяной воды и нерастворимый продукт экстрагируют хлороформом (4×100 мл). Хлороформный раствор промывают водой и упаривают на роторном испарителе (температура водяной бани не выше 25 °С). Полученное масло растворяют в смеси этилового спирта (15 мл) и пиридина (10 мл), раствор охлаждают до 0 °С и порциями добавляют к нему предварительно охлажденную смесь 20 мл 2 н. гидроксида натрия и 20 мл этилового спирта. Смесь оставляют при комнатной температуре на 10 мин. Затем добавляют избыток Дауэкс-50 (Рy) для удаления ионов натрия, смолу отфильтровывают и промывают 5 %-ным пиридином. Фильтрат и промывные воды концентрируют в вакууме до небольшого объема. Добавляют 25 мл воды и полученную смесь экстрагируют эфиром (5×50 мл). Водный слой упаривают до малого объема (~10 мл) и оставляют на ночь в холодильнике. Осадок N-бензоилдезоксиаденозина отфильтровывают и сушат в вакуум-эксикаторе над оксидом фосфора (V).

Выход 1,15 г (67 %). Т. пл. 113–115 °С.

N-БЕНЗОИЛ-5'-МОНОМЕТОКСИТРИТИЛДЕЗОКСИАДЕНОЗИН

N-бензоилдезоксиаденозин – 1,15 г (3,23 ммоль);
монометокситритилхлорид – 1,3 г (4,2 ммоль);
абсолютные пиридин, пентан, хлороформ, этиловый спирт.

1,15 г N-бензоилдезоксиаденозина растворяют в абсолютном пиридине (7 мл) и добавляют 1,3 г монометокситритилхлорида. Смесь оставляют при комнатной температуре в темноте на ночь. После этого добавляют немного этилового спирта и раствор упаривают досуха в вакууме. Остаток растворяют в 5 мл хлороформа и наносят на колонку с оксидом алюминия (установка активности). Колонку элюируют хлороформом (700 мл), собирая фракции по 5 мл. Фракции, соответствующие второму пику, объединяют, упаривают и сушат многократной отгонкой с абсолютным хлороформом и выливают в 300 мл предварительно охлажденного абсолютного пентана. Осадок отфильтровывают и сушат в вакуум-эксикаторе над оксидом фосфора (V).

Выход 1,22 г (59 %).

2',3'-О-п-АНИЗИЛИДЕНУРИДИН

Уридин – 1 г (4 ммоль);
анисовый альдегид – 5 мл (40 ммоль);
хлорид цинка безводный – 2 г;
этилортомуравьиный эфир, диметилформаид,
абсолютные диоксан, гептан, хлороформ, бензол.

1 г уридина, высушенного в течение 10–12 ч в пистолете Фишера при 100 °С, и 2 г безводного хлорида цинка (примечание 1) суспендируют в 5 мл анисового альдегида и встряхивают в течение 4 дней (примечание 2). Затем экстрагируют диэтиловым эфиром (100 мл) и водой (100 мл). Нерастворимый остаток кристаллизуют из воды, содержащей небольшое количество этанола.

Выход 1,1 г 2',3'-О-п-анизилиденуридина; т. пл. 207–208 °С.

Примечание 1. Перед употреблением хлорид цинка прокаливают в фарфоровом тигле или чашке, при этом соль расплавляется, нагревание продолжают до тех пор, пока не прекратится выделение пузырьков из расплава. После этого расплав выливают в фарфоровую ступку, он практически сразу затвердевает, и твёрдое вещество растирают в порошок. Все операции нужно проводить по возможности быстро ввиду гигроскопичности хлорида цинка.

Примечание 2. За это время уридин и хлорид цинка полностью растворяются, образуя прозрачный густой сироп.

2',3'-О-п-АНИЗИЛИДЕНАДЕНОЗИН

Аденозин – 1,35 г (4 ммоль);
анисовый альдегид – 1,5 мл (12 ммоль);
этилортомуравьиный эфир – 3 мл (17 ммоль);
абсолютные диметилформаид, хлороформ.

К суспензии 1,35 г аденозина в 5 мл абсолютного диметилформаида добавляют 1,5 мл свежеперегнанного анисового альдегида, 3 мл этилорто-

муравьиного эфира, 2 мл насыщенного раствора хлороводорода в диоксане и перемешивают 3 ч с магнитной мешалкой. Затем реакционную смесь выливают в 100 мл 10 %-ного раствора карбоната натрия (следить, чтобы рН среды не был ниже 7,5) и экстрагируют небольшими порциями эфира. Кристаллический осадок 2',3'-О-*n*-анизилиденаденозина, выпавший из водного слоя, отсасывают. Дополнительное количество вещества может быть получено экстракцией хлороформом с последующим упариванием. Осадок объединяют с веществом, выделенным после хлороформной экстракции, растворяют в ацетоне и осаждают 5-кратным количеством гептана.

Выход 1,5 г (67 %). Вещество перекристаллизовывают из смеси бензол-этанол (4:1). Т. пл. 198–200 °С.

3'-О-АЦЕТИЛТИМИДИН

5'-О-Тритилтимидин – 1 г (2 ммоль);
уксусный ангидрид – 2,12 мл (2 ммоль);
абсолютные пиридин, бензол, сухой петролейный эфир.

1 г 5'-О-тритилтимидина растворяют в 10 мл абсолютного пиридина, добавляют 2,12 мл свежеперегнанного уксусного ангидрида и оставляют на ночь при комнатной температуре без доступа влаги. Раствор охлаждают до 0 °С и выливают при перемешивании в 70 мл ледяной воды. Белый аморфный осадок отфильтровывают, промывают водой и сушат в вакуум-эксикаторе над оксидом фосфора (V). Т. пл. 90 °С. Для очистки полученный 3'-О-ацетил-5'-О-тритилтимидин растворяют в 2–3 мл абсолютного бензола и выливают в сухой петролейный эфир. Т. пл. 105 °С.

Полученное вещество растворяют в 3,6 мл 80 %-ной уксусной кислоты и кипятят 10 мин в колбе, снабжённой обратным холодильником. Охлаждённый до комнатной температуры раствор выливают в 40–50 мл ледяной воды. Осадок трифенилкарбинола отфильтровывают, а фильтрат упаривают при пониженном давлении и температуре ниже 30 °С. Оставшееся масло высушивают многократной отгонкой с абсолютным бензолом, затем растворяют в 2–3 мл абсолютного ацетона и выливают при перемешивании в 50–70 мл сухого петролейного эфира.

Выход 455 мг (80 %). Т. пл. 176 °С.

ОЧИСТКА РАСТВОРИТЕЛЕЙ

Бензол

Технический бензол содержит около 0,05 % тиофена, который нельзя отделить от бензола ни фракционной перегонкой, ни дробной кристаллизацией. Наличие тиофена обнаруживают «индофениновой» реакцией: 3 мл бензола встряхивают с раствором 10 мг изатина в 60 мл концентрированной серной кислоты и оставляют стоять на 15–20 мин. Окрашивание сернокислотного слоя в сине-зелёный цвет указывает на присутствие тиофена. Для удаления тиофена из бензола используют его способность сульфироваться концентрированной серной кислотой, тогда как бензол в этих условиях не вступает в реакцию. Технический бензол встряхивают несколько раз по 20–30 мин с отдельными порциями концентрированной серной кислоты (10 % от объёма бензола). После отстаивания отделяют нижний сернокислотный слой. Обработку ведут до тех пор, пока он не останется бесцветным или слабо окрашенным в желтоватый цвет, а проба на тиофен станет отрицательной. Очищенный бензол промывают два раза водой, 10 %-ным раствором гидроксида натрия, снова водой, а затем высушивают безводным хлоридом кальция и перегоняют. Затем бензол кипятят с обратным холодильником, защищённым хлоркальциевой трубкой, добавив к нему металлический натрий, в течение 4–5 ч. Перегоняют, собирая фракцию, кипящую при 80–81 °С, $n_D^{20} = 1,5011$.

Этиловый спирт

В круглодонную колбу вместимостью 2 л помещают 1 л спирта-ректификата, вносят 220–250 г свежепрокалённого оксида кальция, смесь энергично кипятят с обратным холодильником на водяной бане в течение 6–8 ч и оставляют стоять на ночь. Верхний конец холодильника защищают хлоркальциевой трубкой. Затем заменяют обратный холодильник дефлегматором и нисходящим холодильником и спирт перегоняют. Первые 15–20 мл дистиллята отбрасывают, а остальной спирт собирают в склянку, в которой его предполагают хранить. Абсолютный спирт очень гигроскопичен, и поэтому его надо хранить в склянке с притёртой пробкой. Т. кип. 78,16 °С, $n_D^{20} = 1,3613$.

Метиловый спирт

В отличие от этанола метанол не образует с водой азеотропной смеси, и поэтому может быть освобождён от неё фракционной перегонкой с хорошо действующей колонкой. Однако его можно абсолютировать так же, как и этанол. Т. кип. $64,7^{\circ}\text{C}$, $n_D^{20} = 1,3286$.

Диэтиловый эфир

При стоянии на свету в соприкосновении с воздухом эфир окисляется с образованием различных, весьма нестойких и взрывоопасных соединений пероксидной природы, которые при перегонке эфира концентрируются и могут вызывать сильный взрыв. Поэтому, прежде чем начать работу с эфиром, надо удалить пероксиды. Это можно сделать с помощью щелочей или восстановителей – сульфита натрия или солей железа (II). В первом случае эфир встряхивают с порошкообразным гидроксидом кальция. На 1 л эфира берут около 70 г щёлочи. Очищенный от пероксидов эфир для удаления примеси этанола промывают водой, а затем насыщенным на холоду раствором хлорида кальция. Промытый эфир переливают в склянку, закрывающуюся корковой пробкой, вносят в неё 150 г безводного хлорида кальция и оставляют стоять не менее чем на сутки, время от времени перемешивая смесь. Затем эфир фильтруют через большой складчатый фильтр в чистую, сухую склянку, следя за тем, чтобы все горелки в радиусе 3 м были выключены. В эфир вносят тонко нарезанные кусочки натрия, очищенного от оксидов, и закрывают корковой пробкой с хлоркальциевой трубкой. Если водород больше не выделяется и поверхность свежих кусочков натрия остаётся блестящей, то склянку закрывают хорошей корковой пробкой и ставят в тёмное место. Иногда эфир дополнительно перегоняют над натрием со всеми предосторожностями, используя предварительно нагретую водяную баню. Т. кип. $34,6^{\circ}\text{C}$, $n_D^{20} = 1,3528$.

Ацетон

Для очистки 1 л ацетона смешивают с 300–350 мл воды и перегоняют на водяной бане из круглодонной колбы вместительностью 2 л с дефлегматором высотой 25–30 см, собирая фракцию, кипящую до 70°C . Эту

фракцию помещают в колбу с хорошо действующим обратным холодильником, добавляют растёртый в порошок перманганат калия (4–5 г на 1 л ацетона) и кипятят на водяной бане 4–5 ч до обесцвечивания раствора. Затем добавляют ещё 2 г перманганата калия и кипятят 1 ч. Если раствор за это время не обесцветится, то обратный холодильник заменяют нисходящим и отгоняют ацетон. Для высушивания ацетон помещают в колбу с обратным холодильником, закрытым хлоркальциевой трубкой, добавляют безводный хлорид кальция (120 г на 1 л) и кипятят, дважды заменяя осушитель через каждые 5 ч. Переливать ацетон на свежий осушитель следует как можно быстрее, так как ацетон очень жадно поглощает влагу. Окончательно ацетон перегоняют над хлоридом кальция. Т. кип. 56,24 °С, $n_D^{20} = 1,3591$.

Хлороформ

Продажный хлороформ содержит около 1 % этанола, который прибавляется в качестве стабилизатора. Примесь спирта удаляют многократным встряхиванием с 5–6 объёмами воды. Затем очистку ведут концентрированной серной кислотой (5 % от объёма хлороформа каждая порция) до тех пор, пока кислота не перестанет окрашиваться, тщательно промывают от кислоты водой в делительной воронке, а затем отделяют от воды, сушат безводным карбонатом калия и перегоняют над небольшим количеством оксида фосфора (V). Т. кип. 61,3 °С, $n_D^{20} = 1,4456$.

ХЛОРОФОРМ НЕЛЬЗЯ СУШИТЬ НАТРИЕМ – ВЗРЫВО-ОПАСНО!!!

Диметилформамид

Для очистки диметилформамида осуществляют фракционную перегонку смеси 250 мл диметилформамида, 30 г бензола и 12 мл воды. В начале отгоняется бензол, вода, амины, аммиак, затем перегонку осуществляют в вакууме. Т. кип. 153 °С, $n_D^{20} = 1,4269$.

Триэтиламин

Продажный триэтиламин кипятят над нингидрином 1,5 ч с обратным холодильником. Отгоняют и кипятят над гидридом кальция 1,5 ч с обратным холодильником. Перегоняют, отбирая фракцию с т. кип. 89,5 °С.

Тетрагидрофуран

100 мл водного тетрагидрофурана кипятят над твёрдым сухим гидроксидом калия в течение 3 ч с обратным холодильником в круглодонной колбе на 200 мл. Затем тетрагидрофуран перегоняют, отбрасывая 15 мл первой фракции и 20 мл остатка. Собранную среднюю фракцию кипятят над гидридом кальция в течение 5 ч и перегоняют над натрием. Т. кип. 66 °С, $n_D^{20} = 1,4070$.

Пиридин

Сырой пиридин нагревают до кипения и порциями прибавляют перманганат калия до появления устойчивой фиолетовой окраски (около 50 г $KMnO_4$ на 1 л пиридина). Затем пиридин высушивают над твёрдым гидроксидом калия и перегоняют над оксидом бария. Т. кип. 115 °С, $n_D^{20} = 1,5102$.

СПИСОК РЕКОМЕНДУЕМОЙ ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шабарова З.А., Богданов А.А. Химия нуклеиновых кислот и их компонентов. М.: Химия, 1978.
2. Овчинников Ю.А. Биоорганическая химия. М.: Просвещение, 1987.
3. Тюкавкина Н.А., Бауков Ю.И. Биоорганическая химия. М.: Медицина, 1991.
4. Кнорре Д.Г., Мызина С.Д. Биологическая химия. М.: Высшая школа, 1998.

СОДЕРЖАНИЕ

Введение	3
Структура нуклеозидов	5
Номенклатура пиримидинов и пуринов	8
Углеводные компоненты нуклеозидов	9
Номенклатура, сокращённые формулы нуклеозидов	11
Свойства нуклеозидов	15
Общие представления	15
Таутомерия	17
Конкретные реакции	18
Реакции с электрофильными реагентами	18
Реакции замещения у атомов углерода	18
Реакции замещения у атомов азота	20
Реакции образования N-оксидов	22
Реакции с нуклеофильными реагентами	22
Реакции присоединения	25
Реакции по экзоциклическим аминогруппам	26
Реакции по углеводному фрагменту	27
Реакции с карбонильными соединениями	30
Практическая часть	31
Очистка растворителей	40
Список рекомендуемой литературы	43