



УДК 577.152.277'135

## СИНТЕЗ 3'-АЗИДО- И 3'-АМИНОАРАБИНОНУКЛЕОЗИД-5'-ТРИФОСФАТОВ И ИЗУЧЕНИЕ ИХ СУБСТРАТНЫХ СВОЙСТВ В СИСТЕМАХ С ПОЛИНУКЛЕОТИДСИНТЕЗИРУЮЩИМИ ФЕРМЕНТАМИ

Панчишин А. В., Пурьгин Н. П., Ажаев А. В. \*,  
Кравецкий А. А. \*, Кутателадзе Т. В. \*\*, Чиджавадзе З. Г. \*\*\*,  
Библиашвили Р. Ш. \*\*\*

Куйбышевский государственный университет, Куйбышев;

\* Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва;

\*\* Институт физиологии Академии наук ГССР, Тбилиси;

\*\*\* Институт экспериментальной кардиологии ВКЦ  
Академии медицинских наук СССР, Москва

Синтезированы 5'-трифосфаты 3'-азидо- и 3'-амино-3'-дезоксипарабинонуклеозидов, содержащих аденин, гуанин, цитозин и тимин. Изучены их субстратные свойства в бесклеточных системах с ДНК-полимеразой I из *E. coli*, ДНК-полимеразой  $\alpha$  из тимуса теленка, ДНК-полимеразой фага T4, обратной транскриптазой, кодируемой вирусом птичьего миеобластома, а также концевой дезоксирибонуклеотидтрансферазой из тимуса теленка. Показано, что aNTP(3'NH<sub>2</sub>) и aNTP(3'N<sub>3</sub>) служат терминирующими цепь ДНК субстратами для ДНК-полимеразы  $\alpha$ , ДНК-полимеразы фага T4, обратной транскриптазы и концевой трансферазы. Напротив, ДНК-полимераза I практически не использует эти соединения в качестве субстратов.

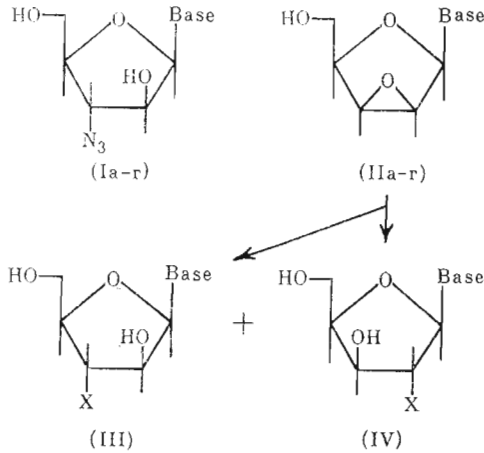
Ранее нами были разработаны общие методы синтеза rNTP(3'NH<sub>2</sub>) [1-3] и dNTP(3'NH<sub>2</sub>) [4, 5] и показано, что rNTP(3'NH<sub>2</sub>) являются субстратами РНК-полимеразы из *E. coli*, терминирующими полирибонуклеотидные цепи [3, 6], а dNTP(3'NH<sub>2</sub>) — субстратами ДНК-полимераз различного происхождения, терминирующими цепи ДНК [6]. Мы синтезировали аналогичные соединения на основе 3'-азидо- и 3'-амино-3'-дезоксипарабинонуклеозидов и испытали их субстратные свойства в системах с различными полинуклеотидсинтезирующими ферментами.

**Синтез.** В качестве исходных соединений для синтеза нуклеозидов (Ia — г) мы выбрали лихсоэпоксиды типа (II), оксирановый цикл которых чувствителен к воздействию нуклеофильных реагентов (схема 1). Продуктами реакции нуклеофильного замещения является смесь арабинозидов типа (III) и ксилозидов типа (IV), причем во всех исследованных случаях значительно преобладают нуклеозиды типа (III), что существенно упрощает их выделение [7-9]. Из интересующих нас эпоксидов типа (II) в литературе описан синтез лишь соединений (IIa) [10] и (IIв) [8]. Попытка провести синтез производного гуанина (IIб) по аналогии с получением соединения (IIа) не увенчалась успехом, поэтому синтез пуриновых эпоксидов (IIа, б) мы осуществляли по более короткой и простой схеме (схема 2).

Легко доступный сахар (V) использовали для гликозилирования персиллированных N<sup>6</sup>-бензоиладенина или N<sup>2</sup>-пальмитоилгуанина по методу Форбрюггена в присутствии кислот Льюиса SnCl<sub>4</sub> или CF<sub>3</sub>SO<sub>3</sub>Si(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub> [11, 12]. В случае N<sup>6</sup>-бензоиладенина с хорошим выходом был получен ацилированный нуклеозид (VIa). Реакция персиллированного N<sup>2</sup>-паль-

Сокращения: rNTP, dNTP, aNTP, rNTP(3'NH<sub>2</sub>), dNTP(3'NH<sub>2</sub>), aNTP(3'NH<sub>2</sub>) и aNTP(3'N<sub>3</sub>) — 5'-трифосфаты соответственно рибонуклеозидов, 2'-дезоксиприбонуклеозидов, арабинонуклеозидов, 3'-амино-3'-дезоксиприбонуклеозидов, 3'-амино-2',3'-дидезоксиприбонуклеозидов, 3'-амино-3'-дезоксипарабинонуклеозидов и 3'-азидо-3'-дезоксипарабинонуклеозидов. Tol — 4-метилбензоил, Ms — метансульфонил, THF — тетрагидрофуран.

Схема 1



Base=Ade (a), Gua (б), Cyt (в), Thy (r) X=нуклео-  
фильный остаток

митоилгуанина дала смесь 9-[3,5-ди-О-(4-метилбензил)-2-О-ацетил-β-D-ксилофуранозил]-N<sup>2</sup>-пальмитоилгуанина (VIб) и его 7-изомера, которая была разделена колоночной хроматографией на силикагеле. Полученные соединения (VIa) и (VIб) далее дезацетилировали действием NH<sub>3</sub> — MeOH в сухом тетрагидрофуране. Смеси упаривали досуха и метансульфонилировали действием MsCl в пиридине. После обработки реакционных смесей MeONa — MeOH ликсозпексиды (IIa, б) очищали кристаллизацией. Выход

Таблица 1

Выход и хроматографическая подвижность (ТСХ)  
производных пуриновых нуклеозидов

Соединение	Выход, %	R <sub>f</sub> в системах		
		А	Б	В
(VIa)	51	0,55	—	—
(VIб)	49	0,39	—	—
(VIIa)	—	0,42	—	—
(VIIб)	—	0,32	—	—
(VIIIa)	—	0,78	—	—
(VIIIб)	—	0,71	—	—
(IIa)	46 *	—	0,15	—
(IIб)	39 *	—	0,08	0,52

\* Выход дан в пересчете на соединение (VIa) и (VIб) соответственно.

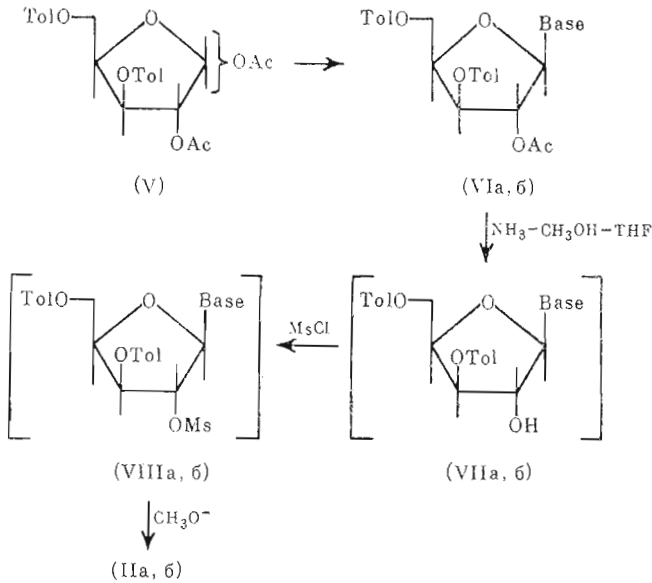
Таблица 2

Выход и некоторые характеристики производных тиминовых  
нуклеозидов

Соединение	Выход %, %	Т. п.л., °С	R <sub>f</sub> в системе	
			Б	Г
(X)	85	97–98	0,71	—
(XI)	86	204–205 (разл.)	—	0,22
(XII)	82	207–208 (разл.)	—	0,37
(XIII)	75	134–135	0,73	0,67
(XIV)	89	160–162	0,59	—
(IIr)	70	—	0,35	0,40

\* Выход на стадию.

Схема 2



Base = N<sup>6</sup>-бензоиладенин-9-ил- (а), N<sup>2</sup>-пальмитоилгуанидин-9-ил- (б)

и хроматографические характеристики полученных пуриновых нуклеозидов даны в табл. 1.

Для получения цитозинового ликсоэпоксида (IIв) мы воспользовались описанным ранее методом Фокса [13, 14]. Тиминовый ликсоэпоксид (IIг) был синтезирован по аналогии с разработанной для уридина схемой [15] (схема 3). Рибозилтимин (IX) получали по методу [16]. Выход ликсоэпоксида (IIг) в расчете на исходное соединение (IX) составил 28%. Выход и некоторые характеристики полученных тиминовых нуклеозидов приведены в табл. 2.

Раскрытие оксиранового цикла соединений (IIа — г) проводили кипячением с избытком смеси азид лития — хлорид аммония в спирте. Во всех случаях в конечной смеси значительно преобладали арабинозиды (Iа — г), которые в результате кристаллизации полностью отделялись от ксилозидов (IVа — г) с выходом 60—90%. Азидонуклеозиды (Iа — г) далее фосфорилировали хлорокисью фосфора в триэтилфосфате по методу [17]. Выход монофосфатов составляет 63—74%. Далее аналогично методу [5] были получены аНТР(3'N<sub>3</sub>) с выходом 54—87% и восстановлены действием трифенилфосфина в смеси NH<sub>2</sub>OH — пиридин в соответствующие

Таблица 3

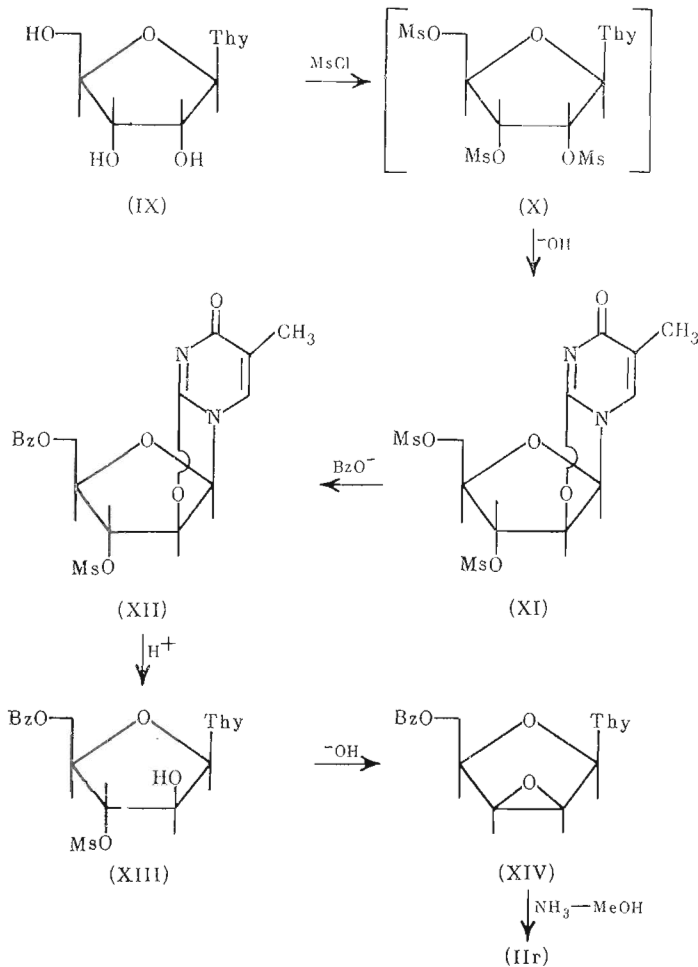
Выход (в пересчете на соединения (Iа—г)) и некоторые характеристики аНТР(3'N<sub>3</sub>) и аНТР(3'NH<sub>2</sub>)

Соединение	Выход, %	$\lambda_{\text{макс}}$ , нм*	Время удерживания, мин**	R <sub>f</sub> в системе Д
аНТР(3'N <sub>3</sub> )	58	259	29,4	0,27
аНТР(3'NH <sub>2</sub> )	34	259	21,8	0,16
аГТР(3'N <sub>3</sub> )	53	252, 270 п	28,4	0,16
аГТР(3'NH <sub>2</sub> )	49	251, 271 п	22,4	0,09
аСТР(3'N <sub>3</sub> )	42	272	24,4	0,18
аСТР(3'NH <sub>2</sub> )	20	273	20,0	0,12
аТТР(3'N <sub>3</sub> )	40	268	23,2	0,20
аТТР(3'NH <sub>2</sub> )	25	268	18,6	0,16

\*п — пелечо.

\*\* Для гАТР и гАДР время удерживания составляет 27,5 и 12,6 мин соответственно.

Схема 3



aNTP(3'NH<sub>2</sub>) с выходом 48–93%. Структура и гомогенность полученных соединений доказана с помощью УФ-, <sup>1</sup>H-ЯМР-спектров и ионообменной ВЭЖХ. Выход aNTP(3'N<sub>3</sub>) и aNTP(3'NH<sub>2</sub>) в пересчете на исходные (Ia – r) и некоторые их характеристики приведены в табл. 3. Данные <sup>1</sup>H-ЯМР-спектров пуриновых нуклеозидов и нуклеотидов сведены в табл. 4, а пиримидиновых нуклеозидов и нуклеотидов – в табл. 5.

Таблица 4

Данные спектров ПМР производных пуриновых нуклеозидов  
DMSO-d<sub>6</sub>-D<sub>2</sub>O (5 : 1) и аналогов нуклеотидов в D<sub>2</sub>O \*

Соединение	δ, м. д.			J <sub>1',2'</sub> , Гц
	H-8	H-2	H-1'	
(IIa)	8,15 с	8,12 с	6,23 д	1
(IIб)	7,64 с	—	6,05 д	1
(Ia)	8,22 с	8,10 с	6,22 д	6
(Iб)	7,90 с	—	6,03 д	6
aAMP(3'N <sub>3</sub> )	8,48 с	8,27 с	6,32 д	6
aGMP(3'N <sub>3</sub> )	7,98 с	—	6,28 д	6
aATP(3'N <sub>3</sub> )	8,45 с	8,29 с	6,14 д	6
aGTP(3'N <sub>3</sub> )	7,90 с	—	6,10 д	6
aATP(3'NH <sub>2</sub> )	8,41 с	8,22 с	6,12 д	5
aGTP(3'NH <sub>2</sub> )	7,92 с	—	6,08 д	5

\* с — синглет, д — дублет.

Химические сдвиги (δ, м. д.) и константы спин-спинового взаимодействия (J, Гц) протонов производных пиримидиновых нуклеозидов и нуклеотидов\*

Соединение 2*	H-6	CH <sub>2</sub> -5 или H <sup>α</sup> -5 (J <sub>CH<sub>2</sub>-5,6</sub> или J <sub>5,6</sub> )	H-1' (J <sub>1',2'</sub> )	H-3' (J <sub>3',4'</sub> )	H-4'	H-5' а, б
(Iв)	7,96 д	5,96 д (7,4)	6,21 д (4,8)			4,66–3,64 м
(Iг)	7,62 м	1,80 д (1)	5,96 д (5,5)			4,40–3,52 м
(IIг)	7,45 м	1,78 д (1)	5,98 д (<1)			4,08–3,60 м
(XI) 3*	8,75 м	1,80 д (1)	6,39 д (6)	5,45 д (2,5)	4,76–4,58 м	4,42–3,96 м
(XII) 3*	7,90–7,34 м 4*	1,75 д (1)	6,40 д (6)	5,58 д (3,2)	4,84–4,62 м	4,42–4,08 м
аTMP (3'N <sub>3</sub> )	7,68 м	1,90 д (1)	6,10 д (6,0)			4,96–3,82 м
аCMP (3'N <sub>3</sub> )	7,92 д	6,04 д (7,5)	6,17 д (5,3)			4,58–3,75 м
аTTP (3'N <sub>3</sub> )	7,66 м	1,92 д (1)	6,12 д (5,8)			4,90–3,92 м
аСТР (3'N <sub>3</sub> )	7,70 д	5,92 д (8,0)	6,08 д (5,5)			4,60–3,75 м
аТТР (3'N <sub>3</sub> )	7,98 д	1,79 д (1)	5,98 д (4,9)			4,86–3,88 м
аСТР (3'NH <sub>2</sub> )	7,63 д	5,94 д (8,0)	6,02 д (4,6)			4,66–3,80 м

\* Спектры соединений (Iв), (Iг), (IIг) записаны в DMSO-d<sub>6</sub> — D<sub>2</sub>O (5 : 1), соединений (XI), (XII) — в D<sub>2</sub>O, производных моно- и трифосфатов — в DMSO-d<sub>6</sub>; с — синглет, д — дублет, м — мультиплет.

3\* 5,60д (H-2', J<sub>2',3'-0</sub>), 3,44с (3'-OMs), 3,14с (5'-OMs),

3\* 5,65д (H-2', J<sub>2',3'-0</sub>), 3,42с (3'-OMs).

4\* Сигнал перекрывается мультиплетом протонов ВzO-группы.

*Субстратные свойства* аNTP, аNTP(3'NH<sub>2</sub>) и аNTP(3'N<sub>3</sub>) по отношению к ДНК-полимеразе α из тимуса теленка, ДНК-полимеразе I из *E. coli*, ДНК-полимеразе бактериофага Т4, обратной транскриптазе вируса миелобластома птиц AMV, концевой дезоксирибонуклеотидилтрансферазе из тимуса теленка и РНК-полимеразе из *E. coli* исследованы как описано ранее для dNTP(3'NH<sub>2</sub>), rNTP(3'NH<sub>2</sub>) и rNTP(3'OCH<sub>3</sub>) [3, 6]. На фотографиях электрофореграмм в геле, полученных при использовании концевой дезоксирибонуклеотидилтрансферазы (рис. 1), трек 2а иллюстрирует положение исходного додекануклеотида, инкубированного с ферментом без субстрата и без ингибитора, а 1в — в присутствии субстрата dTTP (контроли). Другими контролями являются rATP (1а), rCTP (2б), аСТР (1б, 3в), а также dATP(3'F) (4б). rATP и rCTP служат субстратами на ограниченное число циклов синтеза: в олигонуклеотид включается один или два нуклеотидных остатка, после чего элонгация прекращается; аСТР также служит субстратом только в 2–3 цикла, удлинняя олигонуклеотид на 2–3 звена; dATP(3'F) включаются в цепь праймера один раз и терминируют дальнейшую реакцию; аАТР(3'NH<sub>2</sub>) (3б и 2в) и аСТР(3'N<sub>3</sub>) (3а) ведут себя подобно dATP(3'F), но включение аСТР(3'N<sub>3</sub>) происходит крайне неэффективно по сравнению с dATP(3'F) и аАТР(3'NH<sub>2</sub>): для включения в 50% цепей олигонуклеотидного праймера требуется в 5–8 раз больше времени с аСТР(3'N<sub>3</sub>), чем с аАТР(3'NH<sub>2</sub>), аСТР(3'NH<sub>2</sub>) или аСТР при прочих равных условиях (данные не приводятся).

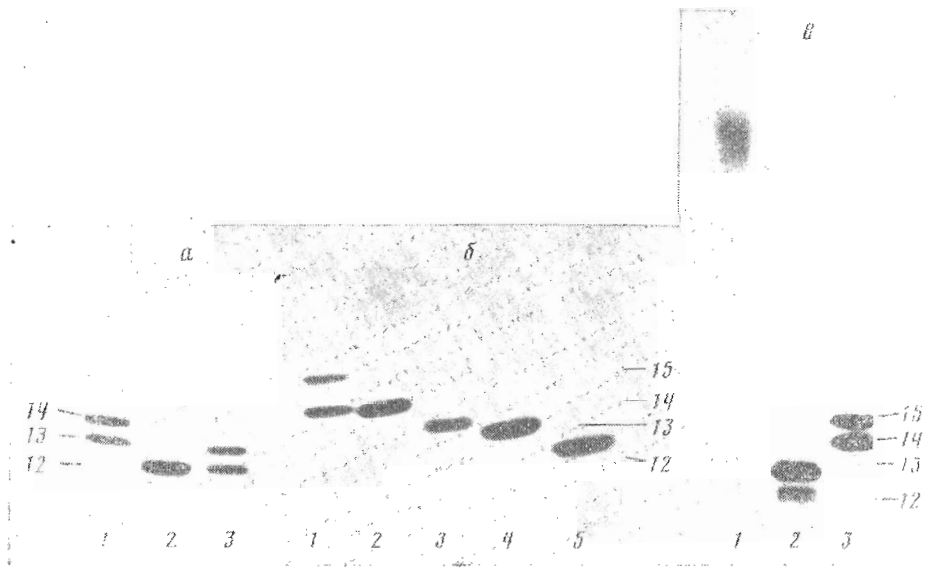


Рис. 1. Удлинение d([5'-<sup>32</sup>P]pACCCTCCTCGGC коцевой дезоксирибонуклеотидил-трансферазой в течение 2 (а) и 0,5 ч (б) в присутствии dTTP (а), без ингибитора (2а, 2б и 1а) или с терминирующим субстратом: rATP (1а); aCTP(3'N<sub>3</sub>) (3а); aCTP (1б, 3б); rCTP (2б); aATP(3'NH<sub>2</sub>) (3б, 2а); dATP(3'F) (4б). Электрофорез в 20% полиакриламидном геле в 30 мМ трис-НСl-буфере, рН 9. Сбоку от каждого рисунка указано число мономерных звеньев олигонуклеотидов

Изучение терминирующих свойств aNTP(3'NH<sub>2</sub>) и aNTP(3'N<sub>3</sub>) с обратной транскриптазой и ДНК-полимеразой α проводилось в системе с ДНК фага M13mp9 и синтетическим праймером d(GTAAAACGACGGCCAGT). Проводили полимеризацию в течение 3 мин с природными субстратами, после чего вносили ингибиторы и по окончании реакции продукты полимеризации подвергали электрофорезу.

Как видно из рис. 2 и 3, aNTP(3'NH<sub>2</sub>) являются хорошими терминирующими субстратами для обратной транскриптазы и ДНК-полимеразы α. Последовательность нуклеотидов в продуктах синтеза легко читается по электрофореграммам и соответствует матрице. Первичная структура участка синтезируемого продукта (префикс d(дезоксн) опущен):

```

GTAAAACGAC GGCCAGTAAA TTCCCGGGGA TCTTGGCCCG ACTGTAACCT 50
TGACCTCCAG GTTCAAGCAA TCCTCCCGCC TCAGCCCCCC AGGTAGCCTC 100
TGACTACATG AGTGCATCCA CACCTGGCTA TTTCTTTCGT AGAGATGGGG 150
ATTCTTTTG TAGTGATTC TTTTATAGAA AGGGCGAGAG GGCCGGCTGC 200

```

Для обратной транскриптазы aNTP(3'N<sub>3</sub>) и aNTP менее эффективны в качестве терминирующих субстратов, но при высокой концентрации они ингибируют синтез специфично к основанию; aNTP являются псевдо-терминирующими субстратами, и цепь ДНК продолжается после введения избытка dNTP в инкубационную среду. В случае ДНК-полимеразы α aNTP(3'N<sub>3</sub>) синтез ДНК не терминируют; ДНК-полимераза фага T4 ингибируется aNTP(3'NH<sub>2</sub>) в той же степени, что и обратная транскриптаза, а ДНК-полимераза I из *E. coli* так же, как и РНК-полимераза I из *E. coli*, не включает aNTP(3'NH<sub>2</sub>) в полинуклеотид (электрофореграммы не приведены). Результаты по ингибиторному анализу перечисленных ферментов аналогами aNTP суммированы в табл. 6.

Причины различия в субстратной специфичности для разных ДНК-полимераз, отмеченные здесь, а также известные ранее (см. [6]), в настоящее время непонятны, они отражают какие-то существенные различия в строении и функционировании активных центров этих ферментов. Как известно, различные ДНК-полимеразы осуществляют отбор субстратов по несколько различающимся механизмам. ДНК-полимеразы, обладающие

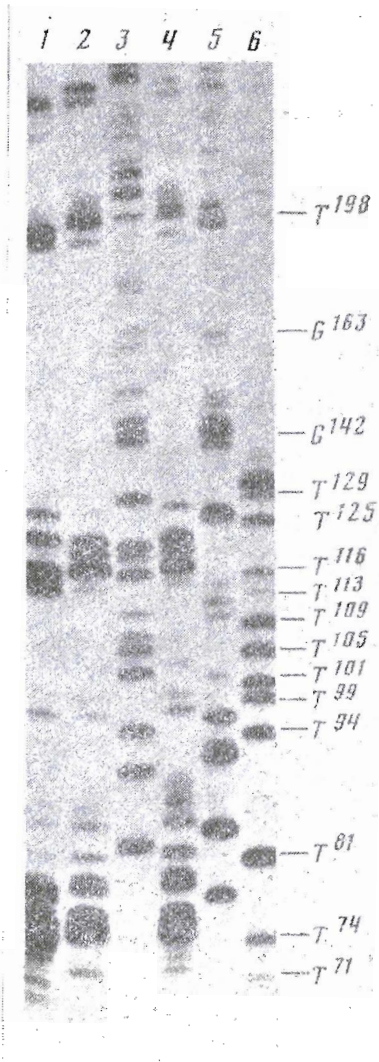


Рис. 2

Рис. 2. Анализ первичной структуры ДНК (от 70 до 200 нуклеотидов), синтезированной в присутствии ДНК-полимеразы  $\alpha$  с использованием ДНК фага М13mp9 в качестве матрицы и праймера  $d([5^{32}P]pCTAAAACGACGGCCAGT)$  без ингибитора (1) или в присутствии NTP(3'NH<sub>2</sub>): 2 - dCTP(3'NH<sub>2</sub>) [5]; 3 - aATP(3'NH<sub>2</sub>); 4 - aCTP(3'NH<sub>2</sub>); 5 - aGTP(3'NH<sub>2</sub>); 6 - aTTP(3'NH<sub>2</sub>). Электрофорез в 20% полиакриламидном геле в 30 мМ трис-HCl-буфере, pH 9. Символ d в обозначении нуклеотидов опущен

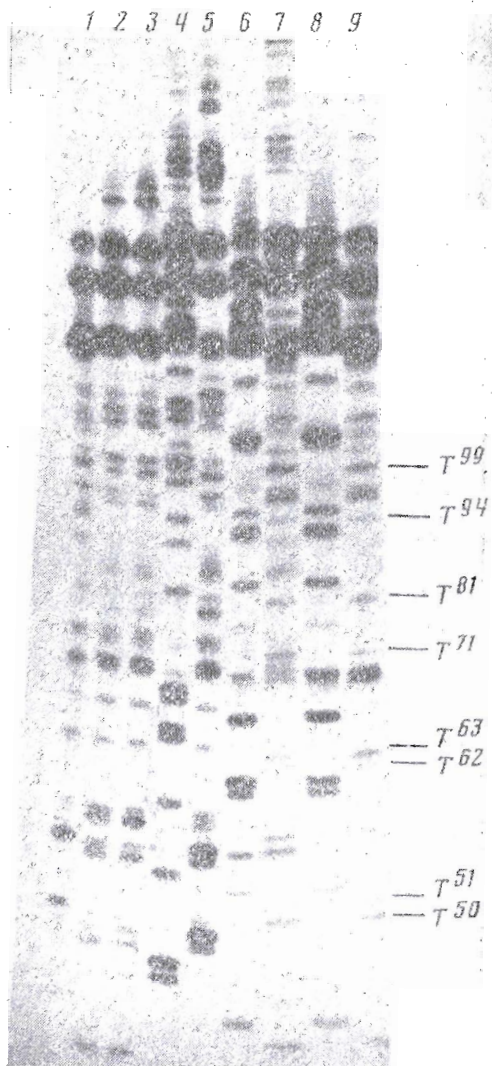


Рис. 3

Рис. 3. Анализ первичной структуры ДНК (от 45-го до 150-го нуклеотида), синтезированной в присутствии обратной транскриптазы с использованием ДНК фага М13mp9 в качестве матрицы и праймера  $-d([5^{32}P]pCTAAAACGACGGCCAGT)$  без ингибитора (1) или с добавлением терминирующих субстратов: 2 - dCTP(3'NH<sub>2</sub>); 3 - dCTP(3'F); 4 - aATP(3'NH<sub>2</sub>); 5 - aCTP(3'NH<sub>2</sub>); 6 - aGTP(3'NH<sub>2</sub>); 7 - aTTP(3'NH<sub>2</sub>); 8 - aGTP(3'N<sub>3</sub>); 9 - aTTP(3'N<sub>3</sub>). Электрофорез в 20% полиакриламидном геле в 30 мМ трис-HCl-буфере, pH 9

3'→5'-экзонуклеазной активностью, при включении субстрата или субстратного терминатора, не способного к элонгации полинуклеотидной цепи с высокой скоростью, удаляют неправильный нуклеотидный остаток из цепи, катализируя его гидролитическое отщепление. Для упомянутых в статье полимераз это свойство присуще ДНК-полимеразам I и T4. Остальные изученные здесь ДНК-полимеразы лишены 3'→5'-экзонуклеазной активности, и аналоги субстратов, будучи включенными в цепь ДНК, уже

Терминация с помощью aNTP синтеза ДНК, катализируемого полинуклеотидсинтезирующими ферментами \*

Фермент	aNTP	aNTP(3'NH <sub>2</sub> )	aNTP(3'N <sub>3</sub> )
Обратная транскриптаза AMV	+	+	+
ДНК-полимераза $\alpha$ из тимуса теленка		+	-
ДНК-полимераза фага T4		+	
Концевая дезоксинуклеотидилтрансфераза из тимуса теленка	+ **	+	+
ДНК-полимераза I <i>E. coli</i>	-	-	-
РНК-полимераза <i>E. coli</i>		-	-

\* «-» — нет специфического ингибирования и терминации продукта; «+» — ингибитор, включается в цепь ДНК и терминирует цепь специфично к основанию.

\*\* Для терминации цепи требуется включение подряд трех aNTP.

не могут быть удалены из цепи. Изученные нами aNTP (3'NH<sub>2</sub>) терминируют синтез, катализируемый ДНК-полимеразами обоих типов, хотя и не всеми. Таким образом, отбор аналогов субстратов определяется также какими-то дополнительными свойствами активных центров ферментов.

Интересной особенностью концевой дезоксирибонуклеотидилтрансферазы является катализ включения максимально трех остатков 5'-фосфатов арабинозилнуклеозидов. По-видимому, после такого включения происходит достаточно существенное изменение конформации 3'-конца праймерного олигонуклеотида, и он уже не может включать следующие нуклеотидные остатки или же связываться с ферментом.

### Экспериментальная часть

ТСХ проводили на стандартных пластинках Silufol UV<sub>254</sub> (ЧССР) или Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck, ФРГ) в системах: хлороформ — метанол, 20:1 (А), хлороформ — этанол, 5:1 (Б), изопропанол — аммиак — вода, 7:1:2 (В), хлороформ — этанол, 9:1 (Г) и диоксан — вода — аммиак, 6:4:1 (Д). Адсорбционную колоночную хроматографию проводили на силикагеле L40/100 (Chemapol, ЧССР), для ионообменной хроматографии использовали DEAE-целлюлозу DE-32 (Whatman, Англия) и Spheron DEAE (ЧССР). ВЭЖХ выполняли на приборе Du Pont 8800 (США). Нуклеозидтрифосфаты анализировали на колонке Alltech NH<sub>2</sub> с размером частиц сорбента 10 мкм. Соединения элюировали линейным градиентом концентрации 0,05—1 М КН<sub>2</sub>РО<sub>4</sub> (рН 3,2) в течение 30 мин при скорости потока 1,5 мл/мин.

УФ-спектры регистрировали в воде на спектрофотометре Beckman (США), ИК — на Spectromon (ВНР), <sup>1</sup>H-ЯМР-спектры — на спектрометре Varian XL 100-15 (США) в D<sub>2</sub>O или смеси DMSO-d<sub>6</sub>—D<sub>2</sub>O (5:1) с трет-бутанолом в качестве внутреннего стандарта или в DMSO-d<sub>6</sub> с тетраметилсиланом в качестве внутреннего стандарта. Электрофорез проводили в 20% полиакриламидном геле в 30 мМ *tris*-НСI-буфере, рН 9. В работе использовали rATP, rCTP, dNTP и aCTP (Merck, ФРГ). Образцы dATP(3'F) и dCTP(3'F) любезно предоставлены И. А. Михайлоуло (ИВХ АН БССР), d(GTAAAACGACGGCCAGT) — Б. К. Черновым (ИМБ АН СССР), обратная транскриптаза вируса миеобластома птиц — В. М. Кавсаном (ИМБГ АН УССР), ДНК-полимераза I — Л. П. Савочкиной (ВКНЦ АМН СССР), ДНК фага M13mp9 — И. М. Чумаковым (ИМБ АН СССР). Использовали ДНК-полимеразу фага T4 (PL Biochemicals, США). ДНК-полимеразу  $\alpha$  из тимуса теленка выделяли по методу [18] с небольшими модификациями, уд. акт. 5000 ед./мг.

Олигонуклеотид d(ACCTCCTCGGC) синтезировали в растворе по методу [19]. После удаления защитных групп вещество выделяли с помощью ВЭЖХ. Вводили 0,5 мл реакционной смеси на колонку (21,2×25 см) с



Zorbax NH<sub>2</sub>, размер частиц сорбента 10 мкм; элюцию проводили линейным градиентом 0,1 М NH<sub>4</sub>OAc в 10% AcOH — 2 М NH<sub>4</sub>OAc в смеси 17,5% AcOH в 20% MeOH (20 мин, скорость потока 15 мл/мин). Вещество с временем удерживания 17,8 мин собирали, разбавляли в 10 раз водой, наносили на колонку (2×0,8 см) с носителем Spheron DEAE. Смола промывали 0,15 М TEAB, вещество элюировали 1 М TEAB. Раствор упаривали, остаток упаривали с водой, растворяли в 0,6 мл воды и делили на три порции, которые последовательно наносили на колонку (25×0,94 см) с Zorbax C-8. Элюировали линейным градиентом концентрации 12–30% метанола в 0,1 М NH<sub>4</sub>OAc (30 мин, скорость потока 2,5 мл/мин). Вещество с временем удерживания 19,4 мин собирали и обессоливали на колонке с носителем Spheron DEAE, как описано выше. Выход 53 ОЕ<sub>254</sub>. Структуру синтезированного олигодезокси-нуклеотида подтверждали гидролизом фосфодиэстеразой змеиного яда (Sigma, США) с последующим анализом продуктов деградации ВЭЖХ на колонке (25×0,46 см) с Zorbax ODS. Соотношение продуктов деградации было близким к теоретическому.

1,2-О-Изопропилиден- $\alpha$ -D-ксилофуранозу синтезировали согласно [20]. 1-(3-Азидо-3-дезоксид- $\beta$ -D-арабинофуранозил)цитозин получали по методу [13]. Все азидонуклеозиды в ИК-спектре имели полосу поглощения при 2150 см<sup>-1</sup>. Характеристики нуклеозидов Ia, Ib, IIa, IIb совпадают с литературными [10, 11].

1,2-Ди-О-ацетил-3,5-ди-О-(4-метилбензоил) - D - ксилофураноза (V). К охлажденному до 0°С раствору 43 г 1,2-О-изопропилиден- $\alpha$ -D-ксилофуранозы в 150 мл пиридина в три приема добавляли охлажденную до 0°С смесь 120 г хлорангидрида *n*-метилбензойной кислоты в 120 мл пиридина. Смесь перемешивали 1 ч при 20°С и выливали на 1,5 кг льда. Смесь экстрагировали хлороформом (2×200 мл), органические экстракты промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали. Остаток упаривали с толуолом, растворяли в 450 мл 75% муравьиной кислоты и нагревали 4 ч при 50°С. Раствор упаривали, остаток упаривали с *n*-бутанолом (2×150 мл), толуолом (2×150 мл) и кристаллизовали из толуола. Вещество растворяли в охлажденной до 0°С смеси 180 мл уксусного ангидрида и 300 мл пиридина, перемешивали 24 ч при 20°С и выливали на 1 кг льда. Вещество извлекали хлороформом (2×300 мл), экстракт промывали насыщенным раствором NaHCO<sub>3</sub>, водой, сушили Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, упаривали досуха, остаток упаривали с толуолом (2×100 мл) и кристаллизовали из метанола. Получали 12 г соединения (V); маточники от кристаллизации упаривали и наносили на колонку с силикагелем (20×5 см). Вещество элюировали бензолом и выделяли дополнительно 11,5 г соединения (V). Суммарный выход соединения (V) 23,5 г (22%), *R*<sub>f</sub> 0,58 (эфир — гексан, 3 : 1), 0,88 в системе Г.

9-[2-О-Ацетил-3,5-ди-О-(4-метилбензоил)- $\beta$ -D-арабинофуранозил] - N<sup>2</sup>-пальмитоилгуанин (VIb). К суспензии 1,8 г N<sup>2</sup>-пальмитоилгуанина в 50 мл гексаметилдисилазана прибавляли 5 мл триметилхлорсилана и смесь кипятили с обратным холодильником до полного растворения осадка. Раствор упаривали, к остатку в 30 мл сухого ацетонитрила прибавляли 1,4 г сахара (V) и 0,3 мл триметилсилилтрифторметансульфоната. Смесь кипятили 3 ч, упаривали досуха, остаток растворяли в 150 мл хлороформа, промывали насыщенным NaHCO<sub>3</sub>, фильтровали через слой Super Cell Hyflo (Gee Lawson Chemicals, Англия), высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, упаривали, остаток растворяли в минимальном объеме бензола и наносили на колонку с силикагелем (20×5 см) в бензоле. Элюировали 0,5 мл бензола, 1 л смеси бензол — этилацетат (1 : 1) и 0,5 л смеси бензол — этилацетат (2 : 3). Фракции с *R*<sub>f</sub> 0,38 в системе А упаривали досуха. Удаление всех защитных групп в метаноле, насыщенном при 0°С аммиаком (35 ч, 20°С), дает соединение с  $\lambda_{\text{макс}}^{\text{MeOH}}$  285 нм, что позволяет приписать ему структуру 7-( $\beta$ -D-ксилофуранозил)гуанина. Фракции с *R*<sub>f</sub> 0,28 в системе А упаривали досуха, выход соединения (VIb) 1,18 г (49%). Дезацелирование порции этого вещества в описанных выше условиях дает соединение с  $\lambda_{\text{макс}}^{\text{MeOH}}$  253 нм и спектром <sup>1</sup>H-ЯМР, характерным для 9-( $\beta$ -D-ксилофуранозил)гуанина.

9-(2,3-Ангидро-β-D-лихсофуранозил)гуанин (IIб). К раствору 1,2 г соединения (VIб) в 30 мл тетрагидрофурана при 0° С прибавляли 7 мл метанола, насыщенного при 0° С аммиаком, и оставляли при 0° С на 12 ч. Раствор упаривали, остаток упаривали с 10 мл пиридина, растворяли в 15 мл пиридина и при -20° С вносили 1 мл метансульфонилхлорида. Раствор оставляли при 0° С на 12 ч, выливали в 200 мл холодного насыщенного NaHCO<sub>3</sub>, вещество извлекали хлороформом (2×200 мл), сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, упаривали и переупаривали с 20 мл толуола. К остатку в 30 мл метанола прибавляли 3 мл 2,5 н. MeONa в метаноле, смесь перемешивали 4 ч при 20° С, прибавляли 0,6 г NH<sub>4</sub>Cl, кипятили 10 мин, приливали 20 мл воды, 100 мл гексана, 50 мл эфира и кипятили до полного растворения. Водную фазу упаривали, к остатку в 10 мл горячего этанола прибавляли 10 г силикагеля и смесь упаривали досуха. Остаток упаривали с хлороформом и наносили на колонку (5×10 см) с силикагелем. Вещество элюировали 1,5 л смеси хлороформ — этанол (5 : 1), затем 2,5 л смеси хлороформ — этанол (2 : 1). Фракции, содержащие соединения (IIб), R<sub>f</sub> 0,52 (А), упаривали и кристаллизовали из воды. Выход 155 мг (39%).

9-[2-О-Ацетил-3,5-ди-О-(4-метилбензоил)-β-D - ксилофуранозил] - N<sup>6</sup>-бензоиладенин (VIa). К суспензии 2,5 г N<sup>6</sup>-бензоиладенина в 50 мл гексаметилдисилазана прибавляли 5 мл триметилхлорсилана и смесь кипятили до полного растворения. Раствор упаривали, остаток растворяли в 60 мл дихлорэтана, прибавляли 4,54 г сахара (V) и раствор 1 мл SnCl<sub>4</sub> в 5 мл дихлорэтана. Смесь кипятили 3 ч, разбавляли 50 мл хлороформа, прибавляли 100 мл насыщенного NaHCO<sub>3</sub> и фильтровали через слой Super Cell Hyflo. Хлороформный раствор сушили над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, упаривали до минимального объема и наносили на колонку с силикагелем (13×7 см) в хлороформе. Вещества элюировали 0,5 л хлороформа и 1 л смеси хлороформ — этанол (40 : 1). Упаривание фракции с R<sub>f</sub> 0,55 (А) дало 3,12 г соединения (VIa).

9-(2,3-Ангидро-β-D-лихсофуранозил)аденин (IIa) получали из 0,8 г производного (VIa) аналогично соединению (IIб). После нейтрализации действием NH<sub>4</sub>Cl смесь упаривали и остаток экстрагировали кипящим этанолом (2×10 мл). Раствор концентрировали до 5 мл, фильтровали, охлаждали до 0° С, осадок отделяли и кристаллизовали из этанола. Выход нуклеозида (IIa) 150 мг.

1-(2,3,5-Три-О-метансульфонил-β-D-рибофуранозил)тимин (X). К раствору 470 мг рибозилтимина в 4 мл пиридина при -10° С добавляли при перемешивании 0,53 мл метансульфонилхлорида, смесь оставляли на 4 ч при 0° С и выливали на 300 г льда. Осадок отделяли, промывали водой, из водного раствора оставшееся вещество экстрагировали хлороформом (3×20 мл). Полученное вещество (X) кристаллизовали из 50% метанола с обесцвечиванием углем. Выход 760 мг.

2,2'-Ангидро-1-(3,5-ди-О-метансульфонил-β-D - арабинофуранозил)тимин (XI). Растворяли 616 мг соединения (X) при нагревании в 50 мл 50% метанола, смесь охлаждали до 50° С, добавляли при перемешивании 1,55 мл 1 н. NaOH и оставляли на 1 ч; кристаллы отделяли, промывали водой, сушили. Выход производного (XI) 460 мг.

2,2'-Ангидро-1-(5-О-бензоил-3-О-метансульфонил-β-D - арабинофуранозил)тимин (XII). К раствору 331 мг бензоата натрия в 25 мл DMF при 100° С прибавляли 460 мг производного (XI) и нагревали 2 ч при 100° С. Массу охлаждали, выливали в 200 мл холодной воды. Выпавшие кристаллы отделяли, промывали водой, сушили. Выход соединения (XII) 395 мг.

1-(5-О-Бензоил-3-О-метансульфонил-β-D - арабинофуранозил)тимин (XIII). К суспензии 400 мг производного (XII) в 120 мл смеси ацетон — вода (1 : 1) добавляли 1,6 мл конц. HCl, смесь перемешивали до полного растворения (~24 ч). Раствор упаривали до объема 50 мл, охлаждали, выпавшие кристаллы отделяли, растворяли в горячем метаноле, добавляли равный объем воды и кристаллизовали на холоде. Выход соединения (XIII) 240 мг.

1-(2,3-Ангидро-5-О-бензоил-β-D - лихсофуранозил)тимин (XIV). Суспендировали 230 мг производного (XIII) в 20 мл 1 н. NH<sub>4</sub>OH и перемешивали

вали 20 мин, смесь нейтрализовали уксусной кислотой, охлаждали, кристаллы отделяли, сушили. Выход соединения (XIV) 160 мг.

*1-(2,3-Ангидро-β-D-лихсофуранозил)гимин (IIg).* К 150 мг соединения (XIV) прибавляли 10 мл насыщенного  $\text{NH}_3$  в метаноле, через 2 сут раствор упаривали, остаток растворяли в небольшом количестве метанола, упаривали с добавлением 1 г силикагеля, наносили на колонку с силикагелем (10×3,5 см), элюировали системой А. После упаривания фракций с R<sub>f</sub> 0,35 (Б) получено 100 мг нуклеозида (IIг).

*3'-Азидо-3'-дезоксикарабинонуклеозиды (Ia–г).* Смесь 1 ммоль эпоксида (IIa–г), 2 ммоль азиды лития и 1,2 ммоль  $\text{NH}_4\text{Cl}$  в 20 мл этанола кипятили до полного исчезновения исходного эпоксида (40 ч для (IIa), 8 ч для (IIб), 10 ч для (IIв) и (IIг)). Азиды (Ia) и (Iв) выделяли как описано ранее [11, 12]. В случае азиды (Iб) этанол упаривали, остаток растворяли в смеси 20 мл воды и 0,5 мл  $\text{NH}_4\text{OH}$  и кристаллизовали в открытом сосуде. Выход азиды (Iб) 64%. В случае нуклеозида (Iг) этанол упаривали, осадок растворяли в 3 мл воды, экстрагировали этилацетатом (4×20 мл). Экстракты сушили над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , упаривали досуха и остаток пересаждали *n*-гексаном из этилацетата. Выход азиды (Iг) 93%.

*3'-Азидо-3'-дезоксикарабинонуклеозид-5' - монофосфаты [aNMP(3'N<sub>3</sub>)].* К охлажденному до 0° С раствору 0,1 мл  $\text{POCl}_3$  в 3 мл триэтилфосфата прибавляли 1 ммоль азидонуклеозида (Ia–г) и оставляли при 4° С на 12 ч. Смесь нейтрализовали насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$ , добавляли 20 мл воды, экстрагировали бензолом (2×10 мл) и эфиром (2×20 мл). Водный слой разбавляли до объема 100 мл и наносили на колонку (25×2,5 см) с DEAE-целлюлозой. Вещества элюировали раствором  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ , pH 8,5 (линейный градиент концентрации 0–0,2 М, общий объем 2 л). Фракции, элюированные при концентрации  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  0,12–0,17 М, упаривали, остаток многократно упаривали с водой. Выход aNMP(3'N<sub>3</sub>) 67%.

*3'-Азидо-3' - дезоксикарабинонуклеозид-5' - трифосфаты [aNTP(3'N<sub>3</sub>)].* К растворам 0,2 ммоль три-*n*-бутиламмониевой соли aNMP(3'N<sub>3</sub>) в 3 мл DMF прибавляли 150 мг  $\text{N,N}'$ -карбонилдимидазола. Через 1 ч к смеси прибавляли 0,5 мл метанола, через 1 ч метанол упаривали и к оставшемуся раствору приливали 5 мл 0,2 М бис(три-*n*-бутиламмониевой) соли пиррофосфорной кислоты. Через 24 ч смесь разбавляли водой до объема 100 мл и наносили на колонку (25×2,5 см) с DEAE-целлюлозой ( $\text{HCO}_3^-$ -форма). Колонку промывали водой, элюировали линейным градиентом концентрации  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (0–0,5 М), объем 1 л; aATP(3'N<sub>3</sub>) элюировался 0,35 М, aGTP(3'N<sub>3</sub>) – 0,39 М, aCTP(3'N<sub>3</sub>) – 0,23 М и aTTP(3'N<sub>3</sub>) – 0,27 М буфером. Фракции, содержащие aNTP(3'N<sub>3</sub>), упаривали досуха и затем упаривали с водой (3×10 мл).

*3'-Амино-3'-дезоксикарабинонуклеозид-5'-трифосфаты [aNTP(3'-NH<sub>2</sub>)].* К раствору 0,1 ммоль aNTP(3'N<sub>3</sub>) в 2 мл смеси пиридин – конц.  $\text{NH}_4\text{OH}$  прибавляли 80 мг трифенилфосфина и смесь перемешивали 2 сут для aATP(3'NH<sub>2</sub>), 1,5 сут – для aGTP(3'NH<sub>2</sub>), 6 сут – для aCTP(3'NH<sub>2</sub>), 2 сут – для aTTP(3'NH<sub>2</sub>) при 20° С. К смеси прибавляли 50 мл воды, экстрагировали эфиром (2×20 мл), водный слой наносили на колонку (25×2,5 см) с DEAE-целлюлозой ( $\text{HCO}_3^-$ ). Вещества элюировали градиентом концентрации  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$  (0,1–0,4 М), объем 1 л; aATP(3'NH<sub>2</sub>) вымывали 0,24 М, aGTP(3'NH<sub>2</sub>) – 0,26 М, aCTP(3'NH<sub>2</sub>) – 0,19 М, aTTP(3'NH<sub>2</sub>) – 0,21 М  $\text{NH}_4\text{HCO}_3$ . Фракции, содержащие aNTP(3'NH<sub>2</sub>), упаривали, снова упаривали с водой (3×10 мл), сушили.

*Тестирование с ферментами.* а) Удлинение олигонуклеотида d([5'-<sup>32</sup>P]pACCCTCCTCGGC) концевой дезоксирибонуклеотидилтрансферазой проводили в 100 мМ калий-какодилатном буфере (pH 6,5), содержащем 5 мМ  $\text{MgCl}_2$ , 0,5 мМ  $\text{CoCl}_2$ , 1,6 мМ 2-меркаптоэтанол, 1 мкМ олигонуклеотид, 200 мкМ dNTP или ингибитор и 0,1 ед. акт./мкл фермента. Объем реакционной смеси 20 мкл. Реакцию начинали добавлением фермента, проводили при 37° С в течение 0,5–2 ч и заканчивали замораживанием проб при –20° С.

б) Для определения необратимости присоединения ингибитора по

3'-концу олигонуклеотида и инактивации затравки пробы с удлинненным [<sup>32</sup>P]олигонуклеотидом в реакции *a* разводили в 20 раз свежей инкубационной средой, которая в отличие от методики *a* содержала немеченый олигонуклеотид и dTTP вместо ингибитора. Реакцию проводили в течение 30 мин. Контрольные опыты показали, что присутствие 10 мкМ ингибитора вместе с 200 мкМ dTTP практически не влияет на удлинение олигонуклеотида олиготимидилатной последовательностью. Продукты обеих реакций анализировали электрофорезом в 30% полиакриламидном геле в денатурирующих условиях с последующей радиоавтографией.

в) Реакцию с обратной транскриптазой вируса миелобластома птиц AMV проводили в 35 мМ трис-HCl-буфере (pH 8,3), содержащем 6 мМ MgCl<sub>2</sub>, 5 мМ 2-меркаптоэтанол, 50 мМ NaCl, четыре dNTP (каждый 10 мкМ), 0,1 мкг одноцепочечной ДНК рекомбинантного фага M13mp9, эквивалентное количество олигонуклеотида d([5'-<sup>32</sup>P]pGTAAAACGACGGCCA·GT) в качестве затравки и 3,5 ед. акт. фермента. Объем реакционной смеси 10 мкл. Реакцию вели 3 мин при 42°С, затем добавляли ингибитор до концентрации 1 мМ и реакцию продолжали еще 30 мин. В некоторых опытах, чтобы установить необратимость включения ингибитора в цепь ДНК, после завершения реакции с ингибитором добавляли смесь четырех dNTP до концентрации 1 мМ, реакцию продолжали еще 30 мин и оставляли замораживанием при -20°С. Продукт реакции анализировали электрофорезом в 20% полиакриламидном геле с последующей радиоавтографией. В качестве матрицы использовали ДНК рекомбинантного фага M13mp9, содержащую вставку с известной первичной структурой [21].

г) Для изучения терминирующих свойств aNTP(3'NH<sub>2</sub>) с ДНК-полимеразой  $\alpha$  использовали систему матрица - затравка, описанную для обратной транскриптазы. Реакцию проводили в 20 мкл реакционной среды, содержащей 50 мМ трис-HCl-буфер (pH 7,5), 5 мМ MgCl<sub>2</sub>, 2 мМ 2-меркаптоэтанол, 10 мкг/мл бычьего сывороточного альбумина, 0,1 мкг ДНК, четыре dNTP (каждый 10 мкМ) и 0,4 ед. акт. ДНК-полимеразы  $\alpha$ . Время реакции 3 мин при 37°С, после чего добавляли 1 мМ aNTP(3'NH<sub>2</sub>) и проводили инкубацию в течение 60 мин. Реакцию с ДНК-полимеразой фага T4 и ДНК-полимеразой I проводили в аналогичных условиях, варьируя время реакции в зависимости от типа фермента.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Ozols A. M., Azhayev A. V., Dyatkina N. B., Kravetsky A. A. Synthesis, 1980, № 7, p. 557-559.
2. Azhayev A. V., Ozols A. M., Bushnev A. S., Dyatkina N. B., Kochetkova S. V., Victorova L. S., Kukhanova M. K., Kravetsky A. A., Gottikh B. P. Nucl. Acids Res., 1979, v. 6, № 2, p. 625-643.
3. Kutuleladze T., Beabekashvili R., Azhayev A., Kravetsky A. FEBS Lett., 1983, v. 153, № 2, p. 420-426.
4. Dyatkina N. B., Azhayev A. V. Synthesis, 1984, № 1, p. 961-963.
5. Зайцева В. Е., Дяткина Н. Б., Краевский А. А., Скапцова Н. В., Туркина О. В., Глущев Н. В., Готтих Б. П., Ажаев А. В. Биооргани. химия, 1984, т. 10, № 5, с. 670-680.
6. Chidgevadze Z. G., Beabekashvili R. Sh., Atrazhev A. M., Kukhanova M. K., Azhayev A. V., Kravetsky A. A. Nucl. Acids Res., 1984, v. 12, № 3, p. 1671-1686.
7. Hirata H., Kobayashi T., Naito T. Chem. Pharm. Bull., 1969, v. 17, № 6, p. 1188-1196.
8. Hollenberg D. H., Watanabe K. A., Fox J. J. J. Med. Chem., 1977, v. 20, № 1, p. 113-119.
9. Mengel R., Wiedner H. Chem. Ber., 1976, B. 109, № 2, S. 433-442.
10. Martinez A. B., Calkins D. F., Reist J. J., Lee W. W., Goodman L. J. Heteroorg. Chem., 1970, v. 7, № 3, p. 713-714.
11. Vorbüggen H., Krolkiewicz K. Angew. Chem. Int. Ed., 1975, v. 14, № 6, p. 421-428.
12. Vorbüggen H., Krolkiewicz K., Bennua B. Chem. Ber., 1981, B. 114, № 4, S. 1234-1255.
13. Codington J. F., Fecher R., Fox J. J. J. Org. Chem., 1962, v. 27, № 1, p. 163-167.
14. Reichman U., Hollenberg D. H., Chu Ch. K., Watanabe K. A., Fox J. J. J. Org. Chem., 1976, v. 41, № 11, p. 2042-2043.
15. Codington J. F., Fecher R., Fox J. J. J. Amer. Chem. Soc., 1960, v. 82, № 11, p. 2794-2805.
16. Vorbüggen H., Krolkiewicz K. Angew. Chem., 1975, B. 87, № 6, S. 413-419.

17. Tazawa J., Tazawa S., Alderfer J. L., Ts'o P. O. P. *Biochemistry*, 1972, v. 11, № 26, p. 4931—4944.
18. Grosse F., Krauss G. *Biochemistry*, 1981, v. 20, № 24, p. 5470—5475.
19. Seth A. K., Jay E. *Nucl. Acids Res.*, 1980, v. 8, № 22, p. 5445—5459.
20. Baker B. R., Shaub R. E. *J. Amer. Chem. Soc.*, 1955, v. 72, № 3, p. 5900—5905.
21. Zaborovski E. R., Chumakov I. M., Prasolov V. S., Kisselev L. L. *Genet.*, 1984, v. 30, № 1, p. 107—111.

Поступила в редакцию

25.II.1985

После доработки

8.IV.1985

## SYNTHESIS OF 3'-AZIDO- AND 3'-AMINO-3'-DEOXYARABINONUCLEOSIDE 5'-TRIPHOSPHATES AND THEIR SUBSTRATE PROPERTIES IN THE SYSTEM OF POLYNUCLEOTIDE SYNTHESIZING ENZYMES

PAPCHIKHIN A. V., PURYGIN P. P., AZHAYEV A. V. \*, KRAYEVSKY A. A. \*,  
KUTATELADZE T. V. \*\*, CHIDGEAVADZE Z. G. \*\*\*, BEABEALASHVILLI R. Sh. \*\*\*

*Kuibyshev State University, Kuibyshev; \*Institute of Molecular Biology,  
Academy of Sciences of the USSR, Moscow; \*\*Institute of Physiology,*

*Academy of Sciences of the Georgian SSR, Tbilisi;*

*\*\*\*Institute of Experimental Cardiology of All-Union Cardiology  
Research Center, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow*

5'-Triphosphates of 3'-azido- and 3'-amino-3'-deoxyarabinonucleosides with adenine, guanine, cytosine and thymine bases have been synthesized. Their substrate properties in respect to some enzymes have been investigated in a cell-free systems. Among these enzymes were *E. coli* DNA polymerase I, DNA polymerase  $\alpha$ , terminal deoxynucleotidyl transferase from calf thymus, T4 phage DNA polymerase and reverse transcriptase from avian myeloblastosis virus. aNTP(3'NH<sub>2</sub>) and aNTP(3'N<sub>3</sub>) were shown to be termination substrates for DNA polymerases  $\alpha$ , T4, reverse transcriptase and terminal transferase. In contrast, DNA polymerase I could not utilize these compounds as termination substrates.