



УДК 577.113.6

ХИМИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ
НЕКОТОРЫХ (2' → 5')ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ,
АНАЛОГОВ (2' → 5')ОЛИГОАДЕНИЛОВОЙ КИСЛОТЫ

*Квасюк Е. И., Булак Т. И., Калининко Е. Н.,
Подкопаева Т. Л., Михайлопуло И. А., Пфляйдерер В. **

Институт биоорганической химии Академии наук БССР, Минск;

** Химический факультет Университета г. Констанц, ФРГ*

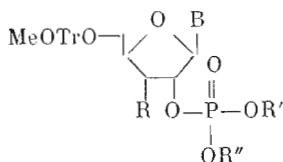
С помощью триэфирного метода синтеза олигонуклеотидов получены тримеры – аналоги (2' → 5') олигоадениловой кислоты, содержащие аденозиновые, гуанозиновые и/или 3'-дезоксаденозиновые фрагменты. Строение синтезируемых соединений доказано с помощью УФ-, КД- и ¹H-ЯМР-спектроскопии.

Установление важной роли 5'-трифосфатов (2' → 5') олигоадениловой кислоты ((2'-5')_npppA(pA)_n, где n ≥ 2) в механизме противовирусного действия интерферона в качестве активаторов латентной клеточной эндорибонуклеазы L(F) [1–3] вызвало интерес к синтезу и углубленному изучению биологической активности разнообразных аналогов [4–23]. В результате динамичного развития исследований в этом направлении были выявлены некоторые структурные факторы, определяющие процесс связывания [14, 16, 17, 23] и активации [11–20, 22] рибонуклеазы L(F) при взаимодействии с (2'-5')_npppA(pA)_n и аналогами. Кроме того, было показано, что метаболизм (2'-5')_npppA(pA)_n связан с регуляторными механизмами ряда клеточных процессов, таких, как рост, митоз и дифференциация [1–3, 20, 22, 24]. Эти наблюдения, вместе взятые, определили новый подход к поиску противовирусных и противоопухолевых агентов в ряду аналогов (2'-5')_npppA(pA)_n, при этом интерес представляют 5'-дефосфорилированные («коровые») фрагменты, а также 5'-моно-, ди- и трифосфаты ([20], см. также литературу, цитированную в этой работе).

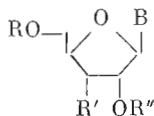
С целью выяснения зависимости между структурой и биологическими свойствами аналогов, а также роли их различных структурных элементов в процессе связывания и активации рибонуклеазы L(F) нами осуществлен синтез модифицированных тримеров, содержащих аденозиновые, гуанозиновые и/или 3'-дезоксаденозиновые (кордицепиновые) фрагменты в цепи.

Синтез олигонуклеотидов осуществлялся триэфирным методом [25] с использованием смеси хинолин-8-сульфохлорид – 3-нитро-1,2,4-триазол, 1:3 [26] в качестве конденсирующего агента и 3'-О-бензоильной защитной группы в случае рибозидов. Использование последней оказалось эффективным в выбранной стратегии синтеза [27] как с точки зрения ее стабильности в процессах получения исходных фрагментов и наращивания цепи, так и с учетом простоты ее удаления на конечной стадии без миграции межнуклеотидной связи (ср. также с данными работ [28–30]). Удаление монометокситритильной защитной группы осуществлялось 2% раствором *n*-толуолсульфокислоты в смеси растворителей хлористый метилен – метанол, 7:3 [31]. В качестве надстраиваемых фрагментов использовались диэфиры (I), (II) [27], (III) и (IV) [27]. Диэфир (III) был получен с выходом 79% действием 1,8-дизабицикло[5,4,0]ундецена-7 (DBU) в пиридине [32] на триэфир (V) [27]. В качестве терминальных фрагментов использовались 2',3'-ди-О-бензоил-2-N-изобутирилгуанозин (VI), 6-N,6-N,2'-O,3'-O-тетрабензоиладенозин (VII) [33] и 6-N,6-N,2'-O-трибензоил-3'-дезоксаденозин (VIII) [5].

Сокращения: ClPh – 2-хлорфенил, Cl₂Ph – 2,5-дихлорфенил, NpEt – 2-(4-нитрофенил)этил, DBU – 1,8-дизабицикло[5,4,0]ундецен-7, ib – изобутирил.

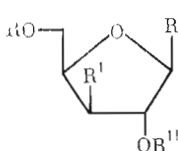


- (I) B=ibGua; R=OBz; R'=Cl₂Ph; R''=H
 (II) B=bzAde; R=OBz; R'=NpEt; R''=H
 (III) B=bzAde; R=OBz; R'=Cl₂Ph; R''=H
 (IV) B=bzAde; R=R'=H; R''=ClPh
 (V) B=bzAde; R=OBz; R'=Cl₂Ph; R''=NpEt

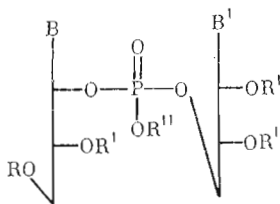


- (VI) B=ibGua; R=H; R'=OBz; R''=Bz
 (VII) B=bz₂Ade; R=H; R'=OBz; R''=Bz
 (VIII) B=bz₂Ade; R=R'=H; R''=Bz
 (IX) B=ibGua; R=MeOTr; R'=OH; R''=H
 (X) B=ibGua; R=MeOTr; R'=OBz; R''=H
 (XI) B=ibGua; R=MeOTr; R'=OH; R''=Bz
 (XII) B=ibGua; R=MeOTr; R'=OBz; R''=Bz

Обработка 2-N-изобутирил-5'-О-монометокситритилгуанозина (IX) [34] бензоилцианидом в ацетонитриле [35] (соотношение реагентов 1 : 1, моль) приводила к смеси бензоилированных производных (X)–(XII), которые были выделены в индивидуальном виде хроматографией на силикагеле. В результате были получены 3'-О-бензоил-2-N-изобутирил-5'-О-монометокситритилгуанозин (X) (41,4%), 2'-О-бензоил-2-N-изобутирил-5'-О-монометокситритилгуанозин (XI) (7,8%) и 2',3'-ди-О-бензоил-2-N-изобутирил-5'-О-монометокситритилгуанозин (XII) (30,5%). Использование бензоилцианида для синтеза селективно блокированных 3'-О-бензоилпроизводных нуклеозидных фрагментов (ср. также с данными работ [27, 30]) представляет разумную альтернативу методу Моффарта и сотр. [36, 37] и позволяет в одну стадию получить исходные нуклеозиды (X) и (XII) для синтеза надстраивающего фрагмента (I) и терминального — бензоата (VI) соответственно. Так, обработкой соединения (X) бис-триазолидом 2,5-дихлорфенилфосфата [32] и последующей хроматографией на силикагеле был получен диэфир (I) с выходом 54,6%. Детритилированием дибензоата (XII) было получено соединение (VI) (74,2%), которое использовалось в качестве терминального фрагмента.



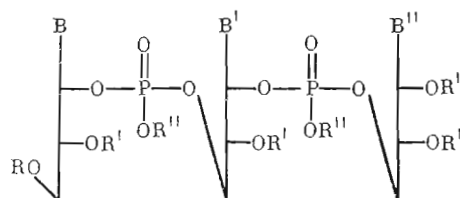
- (XIII) B=Ade; R=R''=H; R'=Cl
 (XIV) B=bz₂Ade; R=R''=Bz; R'=Cl
 (XV) B=bz₂Ade; R=R''=Bz; R'=H
 (XVI) B=bzAde; R=R'=R''=H
 (XVII) B=bzAde; R=MeOTr; R=R''=H
 (XVIII) B=bz₂Ade; R=MeOTr; R'=H; R''=Bz



- (XIX) B=bzAde; B'=ibGua; R=MeOTr; R'=Bz; R''=NpEt
 (XX) B=bzAde; B'=ibGua; R=H; R'=Bz; R''=NpEt
 (XXI) B=ibGua; B'=bz₂Ade; R=MeOTr; R'=Bz; R''=Cl₂Ph
 (XXII) B=ibGua; B'=bz₂Ade; R=H; R'=Bz; R''=Cl₂Ph

В синтезе 3'-дезоксаденозинового фрагмента (VIII) исходным соединением служил 9-(3-хлор-3-деокси-β-D-ксилофуранозил)аденин (XIII) [38]. Бензоилированием хлорида (XIII) хлористым бензоилом в пиридине был получен тетрабензоат (XIV) с выходом 92%, обработка которого последовательно гидридом трибутилолова и хлористым бензоилом давала 6-N,6-N,2'-O,5'-O-тетрабензоил-3'-дезоксаденозин (XV) (91%). Селективное дебензоилирование последнего 1 н. раствором NaOH приводило к 6-N-бензоил-3'-дезоксаденозину (XVI) (85%), который действием монометокситритилхлорида в пиридине был превращен в 6-N-бензоил-5'-O-монометокситритил-3'-дезоксаденозин (XVII) (88%). Обработка последнего хлористым бензоилом в пиридине давала соединение (XVIII) (88%), детритилированием которого был получен трибензоат (VIII) (75%).

Конденсацией соединений (II) и (VI) в пиридине и последующей хроматографией на силикагеле был получен полностью защищенный динуклеозидмонофосфат (XIX) (66,6%), селективное детритилирование которого давало соединение (XX), выделенное в виде индивидуальных диастереоизомеров в результате хроматографии на силикагеле с суммарным выходом 89%. Соединение (XX) было использовано в следующей стадии конденсации с диэфиром (II), и в результате хроматографии на силикагеле был выделен полностью защищенный тример (XXIII) с выходом 88%. Последовательное деблокирование соединения (XXIII) 2% раствором *n*-толуолсульфокислоты, раствором DBU в пиридине, концентрированным водным раствором аммиака и хроматография на DEAE-сефадексе A-25 (HCO₃⁻-форма) приводили к аденилил(2'→5')аденилил(2'→5')гуанозину (XXIV) с суммарным выходом на стадиях деблокирования и выделения 66%. Общий выход тримера (XXIV), начиная со стадии конденсации соединений (II) и (VI), составил 34,4%.

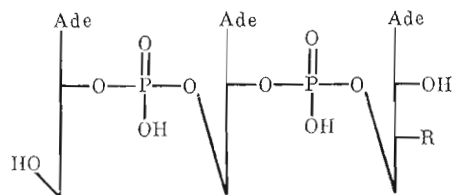


(XXIII) B=B'=bzAde; B''=ibGua; R=MeOTr; R'=Bz; R''=NpEt

(XXIV) B=B'=Ade; B''=Gua; R=R'=R''=H

(XXV) B=bzAde; B'=ibGua; B''=bz₂Ade; R=MeOTr; R'=Bz; R''=Cl₂Ph

(XXVI) B=B''=Ade; B'=Gua; R=R'=R''=H



(XXVII) R = OH

(XXVIII) R = H

В целом аналогичная схема была использована для синтеза аденилил(2'→5')гуанилил(2'→5')аденозина (XXVI), 3'-дезоксаденилил(2'→5')-3'-дезоксаденилил(2'→5')аденозина (XXVII) и 3'-дезоксаденилил(2'→5')-3'-дезоксаденилил(2'→5')-3'-дезоксаденозина (XXVIII) (суммарные выходы 24, 15 и 15% соответственно). Удаление 2,5-дихлорфенильных и 2-хлорфенильных фосфатных защитных групп осуществлялось действием *n*-нитробензальдоксима в смеси растворителей диоксан — триэтиламин — вода, 1 : 1 : 1 [39], после детритилирования. В случае синтеза тримеров (XXVII) и (XXVIII) дебензоилирование на последней стадии деблокирования проводилось насыщенным при 0° С раствором аммиака

¹H-ЯМР-спектры полученных соединений *

Приведены химические сдвиги (δ , м. д.) и константы спин-спинового взаимодействия (J , Гц)

Соединение	H-2, H-8	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5', a, в	Прочие	$J_{1', 2'}$	$J_{2', 3'}$	$J_{3', 4'}$
(I)	8,07 с	6,23 д	5,75 м	5,66 д	4,29 м	3,27 м	12,06 с (1H, NH), 11,61 с (1H, NH), 7,97-6,86 м (ароматич.), 3,71 с (3H, OCH ₃), 3,06 м (6H, N(CH ₂ CH ₃) ₃), 2,75 м (1H, CH(CH ₃) ₂), 1,15 м (15H, CH(CH ₃) ₂ , N(CH ₂ CH ₃) ₃)	7,6	5,5	
(IV)	8,67 с, 8,16 с	6,24 д	5,49 м	2,43 м	4,59 м	3,27 м	8,07-6,66 м (ароматич.), 3,69 с (3H, OCH ₃)	1,5	6,0	
(VII)	8,91 с, 8,73 с	6,44 д	5,98 м	2,41 м	4,48 м	3,66 м	8,11-7,42 м (ароматич.), 5,08 д (1H, 5'-OH)	1,0	2,5	
(IX)	7,88 с	5,90 д	4,62 дд	4,36 дд	4,20 м	3,30 м	8,58 с (1H, NH), 8,50 с (1H, NH), 7,46-6,72 м (ароматич.), 3,72 с (3H, OCH ₃), 2,50 м (1H, CH(CH ₃) ₂), 1,14 д (3H, CH(CH ₃) ₂), 1,10 д (3H, CH(CH ₃) ₂)	5,0	5,0	3,5
(X)	7,68 с	5,73 д	5,22 дд	5,64 дд	4,38 м	3,36 м	9,84 с (1H, NH), 8,10-6,66 м (ароматич.), 3,66 с (3H, OCH ₃), 2,16 м (1H, CH(CH ₃) ₂), 1,08 д (3H, CH(CH ₃) ₂), 0,93 д (3H, CH(CH ₃) ₂)	6,0	6,0	2,5
(XI)	7,77 с	6,09 д	6,00 дд	4,83 м	4,29 м	3,39 м	9,96 с (1H, NH), 8,04-6,63 м (ароматич.), 3,63 с (3H, OCH ₃), 2,34 м (1H, CH(CH ₃) ₂), 1,05 д (3H, CH(CH ₃) ₂), 0,99 д (3H, CH(CH ₃) ₂)	5,0	5,0	5,0

Соединение	H-2, H-8	H-1'	H-2'	H-3'	H-4'	H-5', а, в	Прочие	J _{1, 2'}	J _{2, 3'}	J _{3', 4'}
(XII)	8,16 с	6,14 д	6,76 дд	6,28 дд	4,48 м	3,56 дд, 3,24 дд	7,92-6,70 м (ароматич.), 3,68 с (3H, OCH ₃), 1,78 м (1H, CH(CH ₃) ₂), 0,92 д (3H, CH(CH ₃) ₂), 0,76 д (3H, CH(CH ₃) ₂)	6,0	6,0	4,0
(XVI)	8,78 с, 8,76 о	6,02 л	4,62 м	2,07 м	4,98 м	3,62 м	8,10-7,44 м (ароматич.), 5,72 д (1H, 2'-OH), 5,04 дд (1H, 5'-OH)	1,5	4,0	6,0
(XVII)	8,73 с, 8,54 с	6,08 д	4,80 м	2,18 м	4,48 м	3,18 м	8,40-6,74 м (ароматич.), 5,76 д (1H, 2'-OH), 3,66 с (3H, OCH ₃)	1,5		
(XIX) (смесь ди- астереоизо- меров)	8,75 с, 8,71 с, 8,60 с, 8,58 с, 8,24 с, 8,22 с	6,52 дд (2H), 6,28 дд (2H)	6,00 м (2H), 6,12 дд (2H)	6,05 м (2H), 5,75 м (2H)	4,54 м (4H)	3,98 м (2H), 4,08 м (2H)	12,05 с (2H, NH), 11,40 с (2H, NH), 11,32 с (1H, NHbz), 11,29 с (1H, NHbz), 8,06-7,17 м (ароматич.), 4,33 м (4H, <i>m</i> -NO ₂ PhCH ₂ CH ₂), 3,68 с (3H, OCH ₃), 3,67 с (3H, OCH ₃), 2,73 м (6H, CH(CH ₃) ₂ + + <i>m</i> -NO ₂ PhCH ₂ CH ₂), 1,06 м (12H, CH(CH ₃) ₂)			
(XX) (верхний, диастерео- мер)**	8,80 с, 8,77 с, 8,25 с	6,52 д, 6,29 д	5,86 м, 6,12 дд	5,77 м (2H)	4,49 м (2H)	3,80 м (2H), 3,94 м (2H)	12,02 с (1H, NH), 11,45 с (1H, NH), 11,35 с (1H, NHbz), 8,07-7,15 м (ароматич.),	6,1 6,4	5,5 5,8	

Соединение	Н-2, Н-8	Н-1'	Н-2'	Н-3'	Н-4'	Н-5', α, β	Прочие	J _{1', 2'}	J _{2', 3'}	J _{3', 4'}
(XX) (выжженный) диастерео- мер) **	8,74 с, 8,70 с, 8,22 с	6,53 д, 6,26 д	5,79 м, 6,06 дд	5,79 м (3H)	4,47 м (2H)	3,75 м (2H), 4,07 м (2H)	5,52 дд (1H, 5'-OH), 4,39 м п (4,22 м (по 1H, n-NO ₂ PhCH ₂ CH ₂), 2,71 м (3H, CH(CH ₃) ₂ + + n-NO ₂ PhCH ₂ CH ₂), 1,11 д (3H, CH(CH ₃) ₂), 1,07 д (3H, CH(CH ₃) ₂)	4,9 6,1	5,8	
(XXI) (верхний) диастерео- мер) **	8,78 с, 8,64 с, 8,13 с	6,56 д, 6,23 д	6,24 дд, 6,00 м	5,92 дд, 5,71 дд	4,53 м (2H)	4,48 м (2H), 3,33 м (2H)	12,03 с (1H, NH), 11,39 с (1H, NHbz), 7,98-6,77 м (ароматич.), 3,69 с (3H, OCH ₃), 2,68 м (1H, CH(CH ₃) ₂), 1,10 д (3H, CH(CH ₃) ₂), 1,08 д (3H, CH(CH ₃) ₂)	4,9 6,3	4,8 1,2	5,6 5,6

Соединение	Н-2, Н-8	Н-1'	Н-2'	Н-3'	Н-4'	Н-5'а, в	Прочие	J _{1, 2'}	J _{2, 3'}	J _{3, 4'}
(XXI) (нижний диастерео- мер)**	8,76 с, 8,59 с, 8,19 с	6,53 д, 6,34 д	6,22 д, 6,04 м	5,89 дд, 5,74 дд	4,57 м (2H)	4,52 м (2H), 3,30 м (2H)	12,04 с (1H, NH), 11,42 с (1H, NHbz), 7,93-6,77 м (ароматич.), 3,67 с (3H, OCH ₃), 2,68 м (1H, CH(CH ₃) ₂), 1,07 д (6H, CH(CH ₃) ₂)	4,5 4,8	5,5 2,4	5,9 5,4
(XXIV)	6,80 с, 6,71 с, 6,68 с, 6,48 с, 6,36 с	4,79 д, 4,68 д, 4,31 д	3,74 м, 3,52 м, 3,19 дд	3,30 дд, 3,27 дд, 3,00 дд	2,76 м, 2,94 м, 2,61 м	2,56 дд (1H), 2,43 дд (1H), 2,76 м (2H), 2,87 м (2H)		4,3 3,6 5,0	5,4 3,0 4,9	4,6 4,6
(XXVI)	6,97 с, 6,89 с, 6,87 с, 6,65 с, 6,43 с	4,87 д, 4,69 д, 4,45 д	3,79 м, 3,54 м, 3,27 дд	3,31 дд, 3,27 дд, 3,12 дд	3,02 м, 2,95 м, 2,82 м	2,27 м (2H), 2,62 м (2H), 2,55 м (2H)		4,4 4,4 3,3	4,5 5,0 4,5	4,5 4,5 4,5

* Для записи спектров соединений (I), (VII), (XVI), (XVII), (XIX), (XX) и (XXI) использовались их растворы в DMSO-d₆; для соединений (IV) и (XII) — растворы в CCl₄; для соединений (IX) — (XI) — растворы в CDCl₃ с добавкой 5% CD₃OD; для соединений (XXIV) и (XXVI) — растворы в D₂O. В качестве внутреннего стандарта в случае соединений (XXIV) и (XXVI) использовался трест-бутиловый спирт (TMS = δ В₁(OH) + 1,27), в остальных случаях — тетраметилсилан. Спектры соединений (I), (XIX), (XX) и (XXI) записаны на спектрометре WM-250 Bruker, соединений (IV), (XVII) и (XVIII) — на спектрометре JcoI PS-100, соединений (XXIV) и (XXVI) — на спектрометре WM-360 Bruker.

** ТСХ. система Д.

в метаноле. Сравнение суммарных выходов тримеров (XXIV) и (XXVI) показывает, что использование *n*-нитрофенилэтильной фосфатной защитной группы позволяет получать желаемые соединения с более высоким выходом, чем при использовании 2,5-дихлорфенильной защиты межнуклеотидной фосфатной группы.

Строение синтезированных соединений подтверждено данными элементного анализа, УФ-, КД-, ¹H-ЯМР-спектроскопии (таблица). КД-спектры тримеров (XXIV) и (XXVI), содержащих гуанозиновый фрагмент, различаются по величине и знаку эффектов Коттона в области 220–280 нм. Это связано с различной последовательностью аденозиновых и гуанозинового фрагментов в цепи тримеров (ср. с данными работы [40]). Величина гипохромизма тримеров (XXVII) и (XXVIII) была пайдена равной 23 и 27% (ср. с данными работ [5, 41]) соответственно в результате расщепления олигомеров под действием фосфодиэстеразы змеиного яда (КФ 3.1.4.1). Характер кривых КД тримеров (XXVII) и (XXVIII) удовлетворительно согласуется с данными работ [5, 41], а их ¹H-ЯМР-спектры полностью соответствовали опубликованным в работах [41, 42].

Экспериментальная часть

УФ-спектры записаны на спектрофотометре Specord UV-VIS (Carl Zeiss, ГДР), ¹H-ЯМР-спектры — на спектрометрах JNM PS-100 (Jeol, Япония), WM-250 и WM-360 (Bruker, ФРГ). КД-спектры записаны на спектрополяриметре J-20 (JASCO, Япония) для растворов соединений в 0,01 М фосфатном буфере, pH 7, если не оговорено в тексте. Хроматография в тонком слое (ТСХ) проводилась на пластинках силикагеля F1500 LS254 и целлюлозы F1440 LS254 (Schleicher und Schüll, ФРГ). Системы растворителей для ТСХ на силикагеле: хлороформ — метанол, 19 : 1 (А); хлороформ — метанол, 4 : 1 (Б); этилацетат — гексан, 7 : 5 (В); хлороформ — метанол, 9 : 1 (Г); хлороформ — метанол, 24 : 1 (Д); хлороформ — метанол, 40 : 1 (Е); для ТСХ на целлюлозе: *n*-бутиловый спирт — изопропиловый спирт — вода, 2 : 2 : 1 (Ж); изопропиловый спирт — вода — конц. водный аммиак, 55 : 35 : 10 (З). Колоночная хроматография проводилась на силикагеле L 40/100 (ЧССР). В работе был использован петролейный эфир с т. кип. 40–70° С.

Гипохромизм определяли следующим образом. К 1 мл раствора исследуемого соединения в буфере, содержащем трис-HCl (0,05 М) и MgCl₂ (0,005 М), pH 8,8, с оптическим поглощением 0,3–0,5 добавляли 50 мкл раствора в указанном буфере фосфодиэстеразы змеиного яда (Boehringer, кат. № 108 260), содержащего 1 мг фермента, и реакционную смесь инкубировали при 37° С до достижения постоянной величины поглощения при 260 нм.

В тех случаях, когда в описании эксперимента не указана температура, при которой проводилась реакция, реагенты перемешивались при комнатной (~20° С) температуре. Растворы веществ в органических растворителях, которые получались в результате обработки реакционных смесей, сушили безводным сульфатом натрия. Аналитические образцы высушивали в вакууме над фосфорным ангидридом.

Бензоилирование 2-N-изобутирил-5' - О - монометокситритилгуанозина (IX). К суспензии 1,25 г (2,0 ммоль) соединения (IX) в 100 мл ацетонитрила, содержащего 0,1 мл триэтиламина, при перемешивании добавили в течение 10 ч раствор 0,45 г (3,5 ммоль) бензоилцианида в 40 мл ацетонитрила и перемешивали реакционную смесь в течение 5 ч. Непрореагировавшее исходное соединение (IX) отфильтровали (0,15 г), фильтрат упарили досуха и остаток хроматографировали на силикагеле (200 см³), элюируя продукты реакции в линейном градиенте концентрации этилацетата в гексане (от 30 до 100 об.%, 2 л). Фракции, содержащие индивидуальные соединения, объединили и упарили досуха. В порядке элюирования с колонки получили:

2',3'-Ди-О-бензоил-2-N-изобутирил-5' - О - монометокситритилгуанозин (XII), 0,44 г (30,5%), т. пл. 132–135° С (аморфный порошок, получен

осаждением в гексан); R_f 0,58 (А); УФ-спектр, λ_{max} (MeOH), нм ($\lg \epsilon$): 232 (4,72), 254 (4,40), 261 (4,37), 279 (4,26). Найдено, %: С 70,01; Н 4,98; N 8,02. $C_{18}H_{13}N_5O_8$. Вычислено, %: С 69,13; Н 5,19; N 8,39.

2'-О-Бензоил-2-N-изобутирил-5'-О-монометокситритилгуанозин (XI), 0,10 г (7,8%), т. пл. 145–148° С (аморфный порошок, получен осаждением в гексан), R_f 0,44 (А); УФ-спектр, λ_{max} (MeOH), нм ($\lg \epsilon$): 232 (4,51), 257 (4,28), 280 (4,16). Найдено, %: С 67,94; Н 5,14; N 9,32. $C_{41}H_{39}N_5O_8$. Вычислено, %: С 67,47; Н 5,38; N 9,59.

3'-О-Бензоил-2-N-изобутирил-5'-О-монометокситритилгуанозин (X), 0,53 г (41,4%), т. пл. 161–164° С (из этилацетата), R_f 0,36 (А); УФ-спектр, λ_{max} (MeOH), нм ($\lg \epsilon$): 233 (4,53); 256 (4,32), 279 (4,19). Найдено, %: С 68,02; Н 5,11; N 9,27. $C_{41}H_{39}N_5O_8$. Вычислено, %: С 67,47; Н 5,38; N 9,59.

3'-О-Бензоил-2-N-изобутирил-5'-О-монометокситритилгуанозин-2'-(2,5-дихлорфенил)фосфат (I). Смесь 0,12 г (1,80 ммоль) 1,2,4-триазола и 0,24 г (0,88 ммоль) 2,5-дихлорфенилдихлорфосфата в 2,0 мл пиридина перемешивали 10 мин, охладили до 0° С и порциями в течение 5 мин добавили к указанной смеси раствор 0,46 г (0,63 ммоль) соединения (X) в 1,5 мл пиридина. Реакционную смесь перемешивали 10 мин, разбавили до 30 мл хлороформом и обработали 0,05 М раствором ТЕАВ (2×30 мл). Органический слой высушили, упарили досуха, остаток упарили с толуолом и хроматографировали на силикагеле (20 см³), продукты элюировали хлороформом (0,5 л), затем смесью растворителей хлороформ – метанол – триэтиламин, 97 : 2 : 1 (1 л). Фракции, содержащие соединение (I), объединили, упарили до объема 3 мл и добавили к 300 мл петролейного эфира. Осадок отфильтровали и высушили. Получили 0,39 г (54,6%) диэфира (I) в виде триэтиламмониевой соли, R_f 0,30 (Б); УФ-спектр, λ_{max} (MeOH), нм ($\lg \epsilon$): 229 (4,59), 254 (4,23), 259 (4,23), 275 (4,15), 280 пл. (4,13).

6-N,3'-О-Дибензоил-5'-О-монометокситригиладенозин-2'-(2,5-дихлорфенил)фосфат (III). Раствор 4,5 г (4,01 ммоль) триэфира (V) [27] в 80 мл 0,5 М DBU в пиридине выдержали в течение 20 ч. К реакционной смеси добавили 40 мл 1 н. раствора уксусной кислоты в пиридине, упарили досуха, остаток упарили с пиридином (2×20 мл) и хроматографировали на силикагеле (100 см³), продукты элюировали хлороформом (1 л), затем смесью растворителей хлороформ – метанол – триэтиламин, 95 : 4 : 1 (2 л). Фракции, содержащие диэфир (III), объединили, упарили до объема 10 мл и добавили к 600 мл петролейного эфира. Осадок отфильтровали, высушили. Получили 3,4 г (79%) соединения (III), R_f 0,20 (Г).

2',3'-Ди-О-бензоил-2-N-изобутирилгуанозин (VI). К 100 мл 2% раствора *n*-толуолсульфокислоты в смеси растворителей хлористый метилен – метанол, 7 : 3, добавили 2,4 г (2,87 ммоль) соединения (XII). Гомогенную реакционную смесь перемешивали 20 мин, разбавили хлороформом до 200 мл и обработали 0,05 М фосфатным буфером (рН 7; 3×50 мл). Органический слой отделили, высушили и упарили досуха. Остаток хроматографировали на силикагеле (300 см³), продукты элюировали хлороформом (1 л), затем смесью растворителей хлороформ – метанол, 25 : 1 (2 л). Фракции, содержащие соединение (VI), объединили, упарили досуха и остаток кристаллизовали из метанола. Получили 1,2 г (74,2%) соединения (VI), т. пл. 213–214° С, R_f 0,30 (А); УФ-спектр, λ_{max} (MeOH), нм ($\lg \epsilon$): 232 (4,32), 257 (4,13), 278 (4,00). Найдено, %: С 60,02; Н 4,78; N 12,20. $C_{28}H_{27}N_5O_8$. Вычислено, %: С 59,88; Н 4,84; N 12,48.

6-N,6-N,2'-О-Трибензоил-3'-дезоксаденозин (VIII) и 6-N-бензоил-5'-О-монометокситригил-3'-дезоксаденозин (XVII). К охлажденному до 0° С раствору 1,0 г (3,5 ммоль) хлорида (XIII) [38] в 15 мл пиридина добавили 1,6 мл (14,0 ммоль) хлористого бензоила, убрали охлаждающую баню и реакционную смесь перемешивали 12 ч. Гомогенную реакционную смесь медленно при энергичном перемешивании добавили к смеси лед – вода, 1 : 1 (300 мл), осадок отфильтровали, промыли водой и высушили. Получили 2,4 г (92%) тетрабензоата (XIV), R_f 0,44 (В), который был использован без дополнительной очистки в следующей стадии.

Реакционную смесь, содержащую 2,09 г (2,98 ммоль) хлорида (XIV), 4 мл (15 ммоль) гидрида трибутиллолова и 0,02 г (0,12 ммоль) 2,2'-азабис-(2-метилпропионитрила) в 25 мл диоксана, кипятили 6 ч и упарили досуха. К остатку добавили 200 мл петролейного эфира, порошкообразный продукт отфильтровали, промыли петролейным эфиром и высушили. Вещество, представляющее собой, по данным ТСХ, смесь частично дебензоилированных соединений, растворили в 20 мл пиридина, охладили до 0° С, к раствору добавили 2,2 мл (19,08 ммоль) хлористого бензоила, реакционную смесь перемешивали при 20° С 12 ч и обрабатывали, как описано выше в синтезе соединения (XIV). Получили 1,81 г (91%) N-6,N-6,2'-O,5'-O-тетрабензоил-3'-дезоксаденозина (XV) в виде аморфного порошка, R_f 0,38 (B); УФ-спектр, λ_{max} (MeOH), нм (lg ϵ): 233 (4,32), 256 пл. (4,12), 276 (4,04).

К раствору 1,2 г (1,8 ммоль) соединения (XV) в смеси растворителей этиловый спирт — пиридин, 1 : 1 (12 мл), добавили 7,2 мл 2 н. раствора NaOH, реакционную смесь перемешивали 5 мин, нейтрализовали катионообменной смолой дауэкс 50×8 (Py⁺-форма), смолу отфильтровали и фильтрат упарили досуха. Остаток растворили в 30 мл воды, раствор обработали эфиром (3×30 мл), водный слой отделили, упарили досуха и остаток кристаллизовали из этанола. Получили 0,5 г (78%) 6-N-бензоил-3'-дезоксаденозина (XVI), т. пл. 207–209° С, R_f 0,37 (Г); УФ-спектр, λ_{max} (MeOH), нм (lg ϵ): 233 (4,39), 282 (4,18).

К раствору 1,0 г (2,5 ммоль) соединения (XVI) в 16 мл пиридина добавили 1,4 г (4,6 ммоль) монометокситритилхлорида, реакционную смесь перемешивали 12 ч и затем при энергичном перемешивании вылили в смесь лед — вода, 1 : 1 (300 мл). Выпавший осадок отфильтровали, промыли водой, высушили и хроматографировали на силикагеле (100 см³), элюируя продукты реакции в линейном градиенте концентрации метанола в хлороформе (от 0 до 10 об.%, 2 л). Фракции, содержащие индивидуальный продукт реакции, объединили, упарили до объема ~10 мл, осадили в 600 мл петролейного эфира, осадок отфильтровали и высушили. Получили 1,56 г (88%) 6-N-бензоил-5'-O-монометокситритил-3'-дезоксаденозина (XVII) в виде аморфного порошка, R_f 0,45 (А), УФ-спектр, λ_{max} (MeOH), нм (lg ϵ): 282 (4,57).

Соединение (XVII) бензоилировали согласно описанному выше в синтезе тетрабензоата (XIV). 6-N,6-N,2'-O-Трибензоил-5'-O-монометокситритил-3'-дезоксаденозин (XVIII) был получен с выходом 88% в виде аморфного порошка в результате осаждения в гексан, R_f 0,63 (B).

Удаление монометокситритильной группы в соединении (XVIII) проводили аналогично описанному выше в синтезе дибензоата (VI). 6-N,6-N,2'-O-Трибензоил-3'-дезоксаденозин (VIII) был получен с выходом 75% в виде аморфного порошка в результате осаждения в гексан; R_f 0,66 (Д); УФ-спектр, λ_{max} (MeOH), нм (lg ϵ): 233 (4,28), 277 (4,47).

Аденилил(2' → 5')аденилил(2' → 5')гуанозин (XXIV). К смеси 1,1 г (1 ммоль) диэфира (II) и 0,44 г (0,80 ммоль) терминатора (VI) в 5 мл пиридина добавили 0,68 г (6,0 ммоль) 3-нитро-1,2,4-триазола и 0,45 г (2,0 ммоль) хинолин-8-сульфохлаорида. Реакционную смесь перемешивали 24 ч, затем разбавили хлороформом до 70 мл и обработали 0,05 М фосфатным буфером (рН 7; 2×30 мл). Органический слой высушили, упарили досуха, остаток упарили с толуолом (2×30 мл) и хроматографировали на силикагеле (100 см³), элюируя продукты реакции хлороформом (0,5 л) и затем линейным градиентом концентрации метанола в хлороформе (от 0 до 4 об.%, 1 л). Фракции, содержащие триэфир (XIX), объединили, упарили до объема ~7 мл и осадили в 300 мл петролейного эфира. Осадок отфильтровали, высушили. Получили 0,8 г (66,6%) триэфира (XIX); R_f 0,80 (А); УФ-спектр, λ_{max} (MeOH), нм (lg ϵ): 231 (4,86), 261 (4,61), 276 (4,64), 280 пл. (4,63).

Удаление монометокситритильной защитной группы в триэфире (XIX) проводили аналогично описанному выше в синтезе соединения (VI). Соединение (XX) было выделено с выходом 89% в виде индивидуальных диастереоизомеров с R_f 0,50 и 0,46 (Д).

Конденсация триэффира (XX) с мономерным фрагментом (II) и выделение продукта реакции осуществлялись аналогично описанному выше. Соединение (XXIII) было получено с выходом 88%, R_f 0,60 (A).

Аморфный продукт реакции после удаления монометокситритильной группы в соединении (XXIII) (0,35 г, 0,16 ммоль), как описано выше, растворили в 30 мл 0,5 М раствора DBU в пиридине и выдержали 20 ч. К раствору добавили 15 мл 1 М раствора уксусной кислоты в пиридине, упарили досуха, остаток упарили с пиридином (3×20 мл), растворили в 30 мл концентрированного водного раствора аммиака и выдержали 20 ч. Реакционную смесь упарили досуха, остаток хроматографировали на DEAE-сефадексе А-25 (HCO_3^- -форма, 250 см³), элюируя продукты реакции линейным градиентом ТЕАВ-буфера (0,05–0,7 М, общий объем 3 л). Фракции, содержащие тример (XXIV), объединили и лиофилизировали. Получили 0,12 г (66%) соединения (XXIV), R_f 0,15 (E); УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$ (H_2O), нм ($\lg \epsilon$): 258 (4,46); КД-спектр, λ (H_2O), нм ($[\theta] \cdot 10^{-3}$; без учета гипохромизма): 268 (+19,2), 256 (0), 240 (–22,7), 216 (~0).

Аденилил(2'→5')гуанилил(2'→5')аденозин (XXVI). В синтезе тримера (XXV) была использована в основном методология, описанная выше. Соединения (XXI), (XXII) и (XXV) были получены в индивидуальном виде с помощью колоночной хроматографии на силикагеле с выходами 71, 75,8 и 84,6% соответственно. Дихлорфенильная защитная группа была удалена действием *n*-нитробензальдоксима в смеси растворителей диоксан – триэтиламин – вода, 1 : 1 : 1, в течение 1 ч. Выход индивидуального тримера (XXVI), исходя из полностью заблокированного соединения (XXV), составил 52,6%; R_f 0,36 (З); УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$ (H_2O), нм ($\lg \epsilon$): 259 (4,45); КД-спектр, λ (H_2O), нм ($[\theta] \cdot 10^{-3}$; без учета гипохромизма): 263 (–13,7), 250 (0), 244 (+3,4), 233 (0).

Аналогичным образом был осуществлен синтез 3'-дезоксаденилил(2'→5')-3'-дезоксаденилил(2'→5')аденозина (XXVII) (суммарный выход 15%; R_f 0,59 (З); УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$ (H_2O), нм ($\lg \epsilon$): 260 (4,53); гипохромизм 23%; КД-спектр, λ , нм ($[\theta] \cdot 10^{-3}$): 265 (+65,4), 252 (0), 245 (–34,6), 220 (0), 216 (+7,7), 214 (0)) и 3'-деоксианалога (2'→5')(Ap)₂A (XXVIII) (суммарный выход 15%; R_f 0,67 (З); УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$ (H_2O), нм ($\lg \epsilon$): 260 (4,50); гипохромизм 27%; КД-спектр, λ , нм ($[\theta] \cdot 10^{-3}$): 265 (+61,5), 251 (0), 243 (–36,5), 227 пл. (0), 217 (+19,2), 210 (0)).

Авторы считают своим приятным долгом выразить благодарность немецкому исследовательскому обществу (г. Бонн, ФРГ) и Фонду им. А. фон Гумбольдта (г. Бонн – Бан-Годесберг, ФРГ) за частичную финансовую поддержку настоящего исследования.

ЛИТЕРАТУРА

1. Torrence P. F. Mol. Aspects Med., 1982, v. 5, № 3, p. 129–171.
2. Sen G. C. Prog. Nucl. Acid Res. Mol. Biol., 1982, v. 27, p. 105–156.
3. Lengyel P. Ann. Rev. Biochem., 1982, v. 51, p. 251–282.
4. Charubala R., Pfeleiderer W. Tetrahedron Lett., 1980, v. 21, № 20, p. 1933–1936.
5. Charubala R., Pfeleiderer W. Tetrahedron Lett., 1980, v. 21, № 42, p. 4077–4080.
6. Engels J. Tetrahedron Lett., 1980, v. 21, № 45, p. 4339–4342.
7. Gosselin G., Imbach J. L. Tetrahedron Lett., 1981, v. 22, № 47, p. 4699–4702.
8. Den Hartog J. A. J., Wijnands R. A., Van Boom J. H., Crea R. J. Org. Chem., 1981, v. 46, № 11, p. 2242–2251.
9. Charubala R., Uhlmann E., Pfeleiderer W. Liebigs Ann. Chem., 1981, № 12, p. 2392–2406.
10. Imai J., Torrence P. F. J. Org. Chem., 1981, v. 46, № 20, p. 4015–4021.
11. Baglioni C., D'Alessandro S. B., Nilsen T. W., Den Hartog J. A. J., Crea R., Van Boom J. H. J. Biol. Chem., 1981, v. 256, № 7, p. 3253–3257.
12. Imai J., Johnston M. I., Torrence P. F. J. Biol. Chem., 1982, v. 257, № 21, p. 12739–12745.
13. Eppstein D. A., March J. V., Schryver B. B., Larsen M. A., Barnett J. W., Verheyden J. P. H., Priske E. J. J. Biol. Chem., 1982, v. 257, № 22, p. 13390–13397.
14. Drocourt J.-L., Diffenbach C. W., Ts'o P. O. P., Justesen J., Thang M. N. Nucl. Acids Res., 1982, v. 10, № 6, p. 2164–2174.
15. Haugh M. C., Cayley P. J., Serafinowska H. T., Norman D. G., Reese C. B., Kerr I. M. Eur. J. Biochem., 1983, v. 132, № 1, p. 77–84.

16. *Suhadolnik R. J., Devash J., Reichenbach N. L., Flick M. B., Wu J. M.* Biochem. and Biophys. Res. Commun., 1983, v. 111, № 1, p. 205-212.
17. *Sawai H., Imai J., Lesiak K., Johnston M. I., Torrence P. F.* J. Biol. Chem., 1983, v. 258, № 3, p. 1671-1677.
18. *Jager A., Engels J.* Nucl. Acids Res. Symp. Ser., 1981, № 9, p. 149-152.
19. *Lesiak K., Torrence P. F.* FEBS Lett., 1983, v. 151, № 2, p. 291-296.
20. *Torrence P. F., Imai J., Lesiak K., Warrinnier J., Balzarini J., De Clercq E.* J. Med. Chem., 1983, v. 26, № 12, p. 1674-1678.
21. *Hughes B. G., Srivastava P. C., Musc D. D., Robins R. K.* Biochemistry, 1983, v. 22, № 9, p. 2116-2126.
22. *Lesiak K., Imai J., Floyd-Smith G., Torrence P. F.* J. Biol. Chem., 1983, v. 258, № 21, p. 13082-13086.
23. *Torrence P. F., Imai J., Johnston M. I.* Proc. Nat. Acad. Sci. USA, 1981, v. 78, № 10, p. 5993-5997.
24. *Etienne-Smekens M., Goldstein J., Ooms H. A., Dumont J. B.* Eur. J. Biochem., 1983, v. 130, № 2, p. 269-273.
25. *Reese C. B.* Tetrahedron, 1978, v. 34, № 21, p. 3143-3179.
26. *Charubala R., Pfliederer W.* Tetrahedron Lett., 1982, v. 23, № 46, p. 4789-4792.
27. *Квасюк Е. П., Кулак Т. П., Зайцева Г. В., Михайлопуло И. А., Пфляйдерер В.* Биоорг. химия, 1984, т. 10, № 4, с. 506-514.
28. *Chatopadhyaya J. B.* Tetrahedron Lett., 1980, v. 21, № 42, p. 4113-4116.
29. *Markham A. F., Porter R. A., Gait M. J., Sheppard R. C., Kerr I. M.* Nucl. Acids Res., 1979, v. 6, № 7, p. 2569-2582.
30. *Takaku H., Ueda S.* Bull. Chem. Soc. Japan, 1983, v. 56, № 5, p. 1424-1427.
31. *Takaku H., Yamaguchi R., Nomoto T., Hata T.* Tetrahedron Lett., 1979, v. 20, № 40, p. 3857-3861.
32. *Uhlmann E., Pfliederer W.* Tetrahedron Lett., 1980, v. 21, № 13, p. 1181-1184.
33. *Lohrmann R., Khorana H. G.* J. Amer. Chem. Soc., 1964, v. 86, № 19, p. 4188-4194.
34. *Ohtsuka E., Nakagawa E., Tanaka T., Markham A. F., Ikehara M.* Chem. Pharm. Bull., 1978, v. 26, № 10, p. 2998-3006.
35. *Holy A., Souček M.* Tetrahedron Lett., 1971, № 2, p. 185-188.
36. *Wagner D., Verheyden J. P. M., Moffatt J. G.* J. Org. Chem., 1974, v. 39, № 1, p. 24-30.
37. *Karpeisky M. Ya., Beigelmon L. N., Mikhailov S. N., Padyukova N. Sh., Smrt J.* Coll. Czech. Chem. Commun., 1982, v. 47, № 1, p. 156-166.
38. *Ахрем А. А., Зайцева Г. В., Калининко Е. П., Михайлопуло И. А.* Биоорг. химия, 1976, т. 2, № 10, с. 1325-1337.
39. *Reese C. B., Titmas R. C., Yau I.* Tetrahedron Lett., 1978, № 30, p. 2727-2730.
40. *Canter Ch. R., Warshaw M. M., Shapiro H.* Biopolymers, 1970, v. 9, № 10, p. 1059-1077.
41. *Doornbus J., Charubala R., Pfliederer W., Altona C.* Nucl. Acids Res., 1983, v. 11, № 13, p. 4569-4582.
42. *Doornbus J., den Hartog J. A. J., van Boom J. H., Altona C.* Eur. J. Biochem., 1981, v. 116, № 2, p. 403-412.

Поступила в редакцию
18.III.1985

CHEMICAL SYNTHESIS OF SOME (2' → 5')OLIGONUCLEOTIDES, ANALOGUES OF (2' → 5')OLIGOADENYLIC ACID

KVASYUK E. I., KULAK T. I., KALINITCHENKO E. N.,
PODKOPAIEVA T. L., MIKHAILOPULO I. A., PFLEIDERER W. *

*Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the
Byelorussian SSR, Minsk; *University of Konstanz, Konstanz, FRG*

The (2'→5')linked trimers with adenosine, guanosine and 3'-deoxyadenosine (cordycepin) fragments have been synthesized by the phosphotriester approach. The mixture of quinoline-8-sulfonyl chloride and 3-nitro-1,2,4-triazole was used as condensing agent. Intermediates were purified by silica gel chromatography. Deblocked trimers were isolated by DEAE-Sephadex A-25 chromatography. The structure of the synthesized compounds was confirmed by UV, CD and ¹H NMR spectroscopy data.