



УДК 577.113.6.016:541.6

ИССЛЕДОВАНИЕ ДИАСТЕРЕОМЕРОВ НЕИОННЫХ АНАЛОГОВ
ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВIV*. ВЛИЯНИЕ КОНФИГУРАЦИИ ПРИ АСИММЕТРИЧЕСКИХ АТОМАХ
ФОСФОРА В ЭТИЛОВЫХ ЭФИРАХ ОЛИГОДЕЗОКСИТИМИДИЛАТОВ
НА СТАБИЛЬНОСТЬ ИХ КОМПЛЕКСОВ С poly(dA)

Абрамова Т. В., Воробьев Ю. Н., Лебедев А. В.

Новосибирский институт биоорганической химии
Сибирского отделения Академии наук СССР

Синтезированы производные октатимидилата $[\text{Tr}'(\text{Et})\text{Tr}]_4$, $[\text{Tr}''(\text{Et})\text{Tr}]_4$, $(\text{Tr})_8$ и $[\text{Tr}(\text{Et})]_7\text{Tr}$ (обозначения r' и r'' относятся к энантиомерным конфигурациям при атоме фосфора в фосфотриэфирном фрагменте). Определены температуры плавления комплексов этих октатимидилатов с poly(A) (6, 29, 25, 0° С соответственно). Методом молекулярной механики определены наиболее устойчивые В-формы комплементарных комплексов с poly(A) диастереомеров этиловых эфиров олиготимидилатов с R_p - или S_p -конфигурацией заместителей. Установлено, что энергия комплекса с S_p -изомером на 1–1,5 ккал/моль ниже (в расчете на одну триэфирную межнуклеотидную фосфатную группу), чем R_p -изомера, а температура плавления соответственно выше.

Интерес исследователей к неионным аналогам олигонуклеотидов обусловлен их способностью проникать через клеточные мембраны и высокой резистентностью к нуклеазам [3]. В то же время у них сохраняется основное свойство природных олигонуклеотидов — способность образовывать комплементарные комплексы [4]. Однако получены данные о том, что прочность таких комплексов зависит от конфигурации при асимметрических межнуклеотидных атомах фосфора [5]. Получение неионных аналогов олигонуклеотидов с определенной конфигурацией при асимметрических атомах фосфора является проблемой, которая пока решена далеко не полностью.

В настоящей работе теоретически, методом молекулярной механики, найдены наиболее устойчивые конформации и оценена относительная прочность комплексов с poly(A) индивидуальных диастереомеров этиловых эфиров олиготимидилатов с R_p - или S_p -конфигурацией при межнуклеотидном атоме фосфора. Эти результаты сопоставлены с экспериментальными данными по термической денатурации комплексов различных диастереомеров этиловых эфиров олиготимидилатов с poly(A).

Введение этильных групп по межнуклеотидным фосфатным группам должно оказать существенное влияние на конформацию и стабильность дуплексов олигонуклеотида с неионным аналогом олигонуклеотида. Наиболее важны следующие эффекты:

а) изменение напряжения в модифицированной олигонуклеотидной цепи, вызванное взаимодействием этильной группы с атомами олигонуклеотидной цепи;

б) изменение электростатического взаимодействия между ионной и неионной цепями олигонуклеотидов;

в) изменение взаимодействия модифицированного дуплекса с растворителем;

* Сообщение III см. [1]. Сокращения: TPS — 2,4,6-триизопропилбензолсульфонил, Lev — левулинил. Префикс «d» всюду опущен, так как в работе использованы олиго- и полинуклеотиды только дезоксирибы. Обозначения r' и r'' относятся к энантиомерным конфигурациям при атоме фосфора в фосфотриэфирном фрагменте в соединениях $\text{Tr}'(\text{Et})\text{T}$ и $\text{Tr}''(\text{Et})\text{T}$ и указывают на порядок элюции соответствующих защищенных производных при хроматографии на силикагеле [2].

г) уменьшение конформационной энтропии этильной группы в дуплексе по сравнению с величиной энтропии этой группы в составе свободного модифицированного производного олигонуклеотида.

Все перечисленные эффекты в большей или меньшей степени зависят от конфигурации при атоме фосфора фосфатной группы. Расчеты влияния модификации фосфатных групп на геометрические и энергетические характеристики дуплексов выполнены для регулярного $\text{poly}(A) \cdot \text{poly}[T(\text{Et})]$ -дуплекса в *B*-форме. Метод расчета и выбор параметров описаны в «Экспериментальной части». Расчеты показали, что геометрические характеристики дуплекса при введении этильных групп в олиготимидилат практически не изменяются как для случая R_p^- , так и для S_p^- -изомера. Отличия в значении двугранных углов дезоксирибозофосфатного остова не превышают $2-3^\circ$ для обоих стереоизомеров. Очевидно, это следствие высокой конформационной подвижности этильных групп.

Расчеты энергий ван-дер-ваальсовых и торсионных взаимодействий этильной группы для S_p^- - и R_p^- -изомеров приведены в табл. 1. При сложении величин $U_{T3'}^v, U_{T5'}^v, U_{b3'}^v, U_{b5'}^v$ видно, что взаимодействия этильной группы с ближайшими группами 3'- и 5'-концов дезоксирибозофосфатной цепи для оптимальных S_p^- -изомеров в среднем на 1,4 ккал/моль более выгодны, особенно для контактов этильной группы с остатком дезоксирибозы 5'- и основанием 3'-концов. Строение дуплексов оптимальных конформеров S_p^- - и R_p^- -изомеров приведено на рис. 1, 2. Видно, что в S_p^- -изомере этильная группа компактно уложена в большую бороздку дуплекса, тогда как в R_p^- -изомере она экспонирована в окружающую среду.

Расчеты электрстатической энергии взаимодействия модифицированной фосфатной группы с ближайшими атомами и группировками (табл. 1) свидетельствуют, что в R_p^- -изомере полная электрстатическая энергия цепи уменьшается на 0,5 ккал/моль на одну модифицированную фосфатную группу.

Таким образом, для каждого диастереомера получено по два оптимальных конформера этильной группы: для S_p^- -изомера конформеры (g^-, t) и (t, t) с относительной энергией соответственно 0,00 и 0,72 ккал/моль; для R_p^- -изомера конформеры (g^+, t) и (t, t) с относительной энергией 0,93 и 1,04 ккал/моль на одну этильную группу. Энергии конформеров диастереомеров даны относительно энергии S_p^- (g^-, t)-изомера. Судя по значениям углов вращения χ_1, χ_2 (см. табл. 1) для оптимальных конформеров этильной группы (а они близки к одному из идеальных значений (g^+, g^-, t)), эти значения обусловлены в основном торсионными потенциалами вращения вокруг соответствующих связей, так что вклады других типов взаимодействий этильной группы с окружением малы. Поэтому с хорошим приближением можно полагать, что формы поверхностей потенциальных энергий по параметрам χ_1, χ_2 близки для всех четырех оптимальных конформеров этильной группы в диастереомерах, так как они в основном определяются одинаковыми торсионными потенциалами. В этом случае разность средних потенциальных энергий диастереомеров и энтропий этильной группы может быть оценена по формуле (6) (см. «Экспериментальную часть»). Из приведенных выше значений энергий конформеров получаем: для разности средних потенциальных энергий S_p^- - и R_p^- -изомеров $\Delta U_{\#}^{(K)} = -0,8$ ккал/моль, разности энтропии $\langle T_m \rangle \cdot \Delta S_{\#}^{(K)} = 0,07$ ккал/моль и разности свободных энергий $\Delta F_{\#}^{(K)} = -0,73$ ккал/моль.

Колебательные степени свободы не могут давать сколько-нибудь ощутимого вклада в разность энтропий диастереомеров из-за малости абсолютного вклада высокочастотных колебаний в энтропию состояния. Так, вымораживание одной колебательной степени свободы для частоты 1000 см^{-1} приводит к уменьшению энтропии на 0,1 ккал/моль К [6].

Таким образом, выигрыш в свободной энергии $\Delta F_{\#}^{(K)}(T_m)$ S_p^- -изомера относительно R_p^- -изомера, обусловленный взаимодействиями внутри макромолекулы, по нашим расчетам, составляет $\approx -0,7$ ккал/моль на каждую этильную группу.

Оценка влияния растворителя на относительную стабилизацию S_p^- - и

Расчет энергий взаимодействия (ккал/моль) и конформаций этильной группы дуплекса Ар.Тр(Ет)Т*

Изомер	СК**	χ_1	χ_2	$U_{\Gamma 3'}$	$U_{\Gamma 5'}$	$U_{B 3'}$	$U_{B 5'}$	U_{Ph}	U_{Σ}^V	U_{Σ}^e	ΔU_t	ΔU_{Σ}	N
S_p	tt	176	181	-0,185	-0,697	-0,361	-0,097	-0,311	-18,60	-15,38	0,02	0,72***	2
	tg^+	177	101	-0,210	-0,586	-0,253	-0,072	0,33	-17,73	-15,38	1,96	3,55	10
	tg^-	202	262	-0,208	-1,263	-0,259	-0,084	2,07	-16,69	-15,38	1,99	4,62	15
S_p	g^+t	268	179	-0,489	-0,608	-0,552	-0,063	2,13	-16,50	-15,38	0,40	3,20	9
	g^+g^+	304	178	-0,853	-0,747	-1,226	-0,097	0,551	-19,32	-15,38	0,02	0,00***	1
	g^+g^-	46	333	-0,262	34,245	1162	-0,976	201,7	35,561	-15,38	2,10	35,582	16
S_p	g^-t	304	177	-0,854	-0,748	-1,23	-0,10	0,552	-19,32	-15,38	0,02	0,00***	1
	g^-g^+	185	124	-0,204	-0,728	-0,264	-0,07	0,06	-18,15	-15,38	2,50	3,67	13
	g^-g^-	316	267	-1,01	-0,718	-0,937	-0,091	2,37	-17,33	-15,38	2,51	3,60	12
R_p	g^-t	266	179	-0,658	0,971	-0,07	-0,035	-0,783	-17,21	-15,90	1,41	2,01	6
	g^-g^+	217	256	-0,375	0,396	-0,066	-0,033	-0,363	-17,08	-15,90	2,55	4,27	14
	g^-g^-	275	178	-0,429	0,648	-0,074	-0,036	-0,717	-17,25	-15,90	0,26	1,81	5
R_p	g^+t	64	179	-1,148	-0,317	-0,167	-0,029	0,430	-17,87	-15,90	0,03	0,93***	3
	g^+g^+	62	103	-0,966	-0,360	-0,193	-0,032	0,999	-17,23	-15,90	2,00	3,57	11
	g^+g^-	193	180	-0,324	-0,217	-0,061	-0,027	-0,565	-17,84	-15,90	0,06	1,05	4
R_p	tt	191	180	-0,320	-0,255	-0,062	-0,027	-0,518	-17,82	-15,90	0,05	1,04***	4
	tg^+	190	102	-0,374	-0,497	-0,066	-0,034	0,136	-17,78	-15,90	2,01	3,03	7
	tg^-	240	168	-0,625	-1,280	-0,062	-0,033	-0,836	-17,90	-15,90	0,90	3,05	8

* χ_1 , χ_2 — оптимизированные величины торсионных углов этильной группы. $U_{\Gamma 3'}$, $U_{\Gamma 5'}$, $U_{B 3'}$, $U_{B 5'}$ — энергии ван-дер-ваальсового взаимодействия этильной группы с дезоксирибозой и основанием 3' и 5'-концов. U_{Ph} — энергия взаимодействия этильной группы с атомами фосфатной группы (O 3', O 5', P, O p). U_{Σ}^V — суммарная ван-дер-ваальсова энергия дуплекса, U_{Σ}^e — суммарная электростатическая энергия дуплекса; ΔU_t — торсионная энергия этильной группы; ΔU_{Σ} — полная относительная энергия дуплексов. N — порядковый номер относительной энергии конформеров.

** Стартовая конформация этильной группы.

*** Оптимальные конформеры.

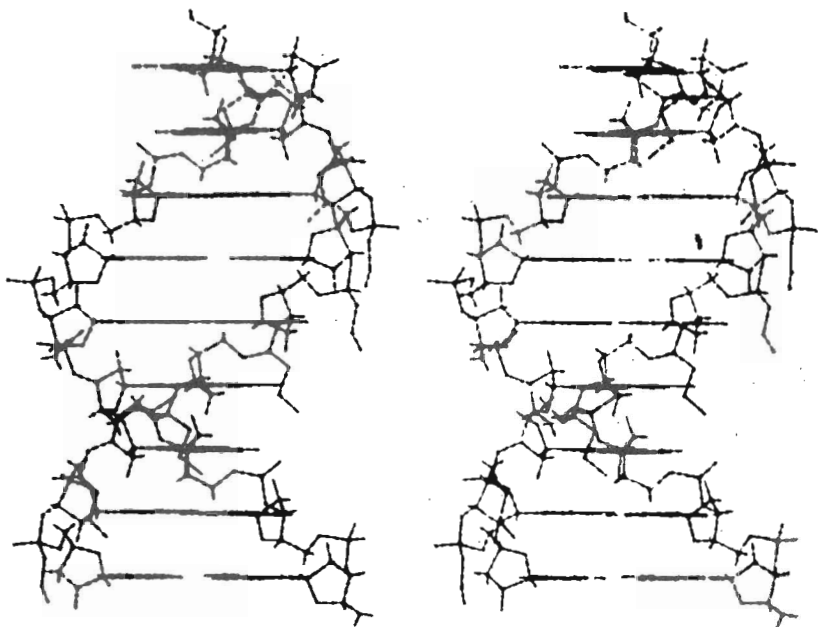


Рис. 1. Структура оптимального g^- , t -конформера B -формы дуплекса S_p -изомера

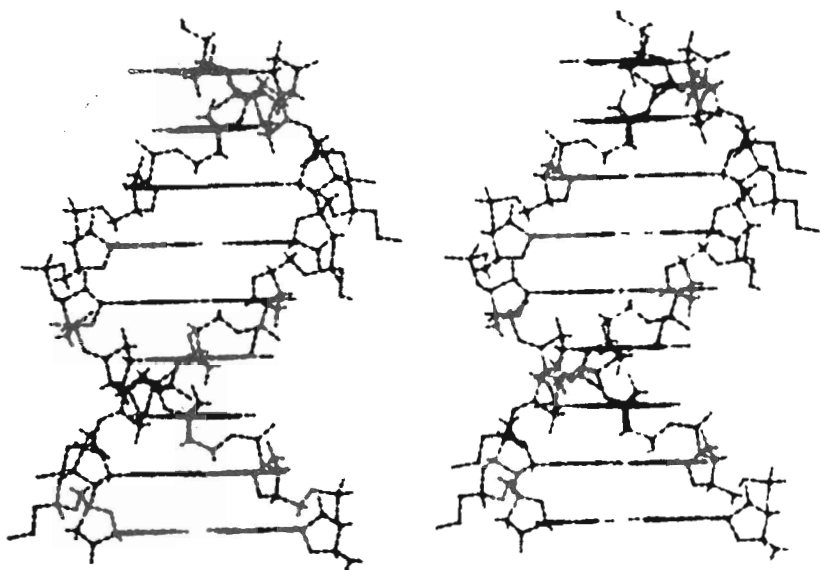


Рис. 2. Структура оптимального g^+ , t -конформера B -формы дуплекса R_p -изомера

R_p -изомеров в нашем случае может быть выполнена чисто качественно. Этого достаточно по той причине, что из совершенно общих соображений полярный растворитель дополнительно стабилизирует именно S_p -изомер. Из строения дуплексов для S_p - и R_p -изомеров (рис. 1 и 2) видно, что только S_p -изомеру соответствует компактная укладка гидрофобной этильной группы с гидрофобными группами дезоксирибозофосфатного остова. Полуколичественно эффект относительной стабилизации S_p -изомера по сравнению с R_p -изомером можно оценить по методике парциальных гидратных оболочек. Согласно работе [7], свободная энергия гидратации свободной этильной группы равна 1,0 ккал/моль. Приблизительно полагая, что в S_p -изомере этильная группа «адсорбирована» на поверхности большой бо-

Значения химических сдвигов* в спектрах ^{31}P -ЯМР $[\text{Tr}'(\text{Et})\text{Tr}]_4$ и $[\text{Tr}''(\text{Et})\text{Tr}]_4$

Соединение	Сигнал атома фосфора фрагмента **		
	$-\text{Tr}(\text{Et})\text{T}-$	$-\text{TrT}-$	$-\text{Tr}$ (концевой)
$[\text{Tr}'(\text{Et})\text{Tr}]_4$	-2,23(1); -2,29(3)	-1,27(3)	2,85(1)
$[\text{Tr}''(\text{Et})\text{Tr}]_4$	-2,15(4)	-1,18(3)	2,88(1)

* Ошибка определения $\pm 0,05$ м. д.** В скобках после значения величины химического сдвига указано число ядер фосфора. Спектры записаны в D_2O (ρD 8,7), содержащей $0,8 \cdot 10^{-4}$ М EDTA; концентрация $[\text{Tr}'(\text{Et})\text{Tr}]_4$ $1,3 \cdot 10^{-2}$ М; концентрация $[\text{Tr}''(\text{Et})\text{Tr}]_4$ $5,0 \cdot 10^{-3}$ М.

роздки, а в R_p -изомере полностью экспонирована в растворитель, получаем, что объем гидратной оболочки в S_p -изомере уменьшен в 2 раза по сравнению с ее объемом в R_p -изомере. Следовательно, свободная энергия взаимодействия этильной группы в R_p - и S_p -изомерах с водой может быть оценена приближенно равной 1,0 и 0,5 ккал/моль соответственно, т. е. относительная стабилизация S_p -изомера полярным растворителем $\Delta F^{(p)} = -0,5$ ккал/моль.

Таким образом, рассмотрение различных составляющих полной энергии дуплексов в растворе позволяет заключить, что дуплексы S_p -изомеров более стабильны по сравнению с R_p -изомерами на $\Delta F = \Delta F^{(k)} + \Delta F^{(p)} \approx 1,2$ ккал/моль на этильную группу. По формуле (5) (см. «Экспериментальную часть») получаем оценку для разности температуры плавления S_p - и R_p -изомеров $\Delta T/T_m = 0,15$. Величина средней энтальпии плавления дуплексов ΔH_m взята нами равной 8 ккал/моль или средней величине для А·Т-пар ДНК [8]. Таким образом, по нашим оценкам, температура плавления комплекса $\text{poly}(\text{A}) \cdot \text{poly}[\text{T}(\text{Et})]$ в случае S_p -изомера должна быть выше на 40° , чем для R_p -изомера.

В работе [4] для объяснения различной устойчивости комплексов $\text{poly}(\text{A})$ с индивидуальными диастереомерами декатимидилата с чередующимися метилфосфонатными и фосфодиэфирными связями привлекаются соображения о различной сольватации метильной группы. Авторы делают вывод, что ориентация метильной группы в раствор, в сторону от гидрофобной области гетероциклических оснований (R_p -диастереомер), невыгодна для образования комплементарного комплекса в согласии с нашими расчетами для этильных производных. Однако в работе [3] на основании анализа молекулярных моделей делается предположение, что в случае этиловых эфиров дезоксиолигонуклеотидов S_p -конфигурация имеет значительно больше ограничений конформационной подвижности, чем R_p -конфигурация, т. е. комплекс с комплементарным дезоксиполинуклеотидом должен быть стабильнее в случае R_p -диастереомера. Этот вывод не согласуется с нашими расчетами. В последнем примере авторы недостаточно строго объясняют свои выводы об относительной стабильности S_p - и R_p -изомеров. Нами же получены расчетные данные, свидетельствующие о различной прочности комплементарных комплексов R_p - и S_p -изомеров этиловых эфиров олиготимидилатов с $\text{poly}(\text{A})$. Для экспериментального подтверждения полученного теоретического результата нами были синтезированы диастереомеры тетраэтилового эфира октатимидилата с чередующимися фосфотри- и фосфодиэфирными связями $[\text{Tr}'(\text{Et})\text{Tr}]_4$ и $[\text{Tr}''(\text{Et})\text{Tr}]_4$ (см. схему синтеза октатимидилатов). Синтезированные октатимидилаты были выделены и очищены с помощью методов ионообменной и обращенно-фазовой хроматографии и охарактеризованы методами ^{31}P - и ^1H -ЯМР-спектроскопии (табл. 2, 3). Отнесение сигналов в спектре ^{31}P -ЯМР было основано на данных работ [9, 10], а в спектрах ^1H -ЯМР — на основании данных работ [2, 11] по $\text{Tr}(\text{Et})\text{T}$ и TrT соответственно. Были синтезированы также октатимидилат $(\text{Tr})_8$ и его гептаэтиловый эфир $[\text{Tr}(\text{Et})]_7\text{Tr}$ со статистическим распределением всех возможных R_p - и S_p -изомеров. Полученные производные октатимидилатов были охарактеризованы с помощью ^1H -ЯМР-

Химические сдвиги (δ , м. д.) в спектрах ^1H -ЯМР олиготимидилатов (D_2O (рD 8,7), концентрация EDTA $0,8 \cdot 10^{-4}$, концентрация образца $1,8 \cdot 10^{-2}$ М в расчете на мононуклеотид)

В скобках после значения величины химического сдвига приведено число протонов

Протон (фрагмент)	[Тр'(Et)Тр]₁	[Тр°(Et)Тр]₄	(Тр)₃	[Тр(Et)]₂Тр
$\text{CH}_3(\text{T})$	1,89(24)	1,88(24)	1,87(24)	1,88(24)
H6	7,66(3); 7,62(1); 7,57(1); 7,49(3)	7,62(3); 7,59(1); 7,57(1); 7,49(3)	7,68(2); 7,65(6)	7,63(1); 7,54(1); 7,48(6)
H1'	6,24*(8)	6,25*(8)	6,22*(8)	6,22*(8)
H3'(-Тр(Et)-)**	5,15*(4)	5,14*(4)	—	5,12*(7)
H3'(-Тр-)**	4,87*(3)	4,84*(3)	4,89*(7)	—
H4', H5'a, H5'b (без H5'a, H5'b первого Т)	4,0-4,4(22)	4,0-4,4(22)	4,31(8)***; 4,12(14)***	4,1-4,5(22)
H5'a, H5'b (первого Т с 5'-конца)	3,77(2)	3,78(2)	3,80(2)	3,79(2)
H2'a, H2'b	2,3-2,7(16)	2,2-2,7(16)	2,4-2,8(16)	2,3-2,8(16)
CH_2 (этил)	4,24(8)	4,25(8)	—	4,1-4,5(14)
CH_3 (этил)***	1,35(12)	1,36(12)	—	1,37(21)

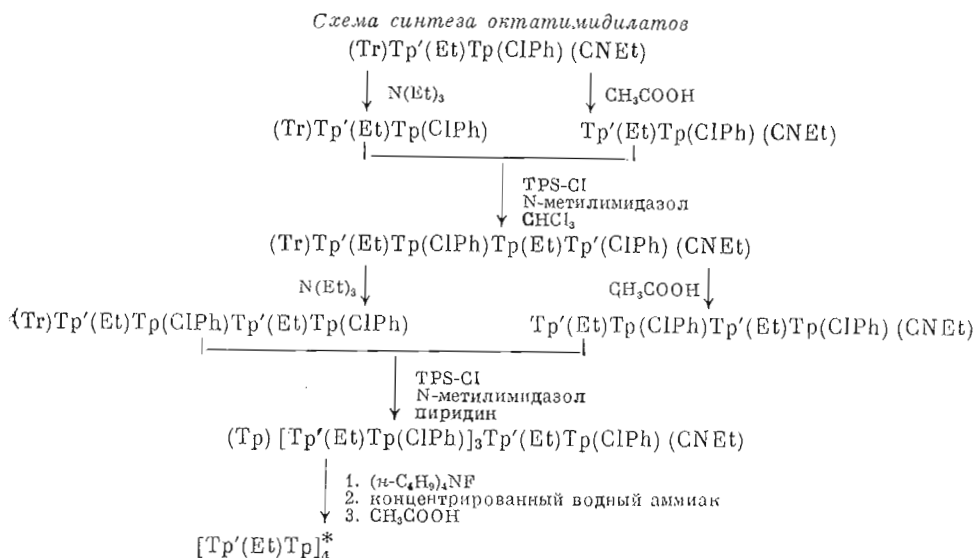
* Приведено значение химического сдвига центра сигнала.

** Согласно работе [11], протон H3' 3'-концевого остатка Тр должен иметь химический сдвиг 4,8 м. д. Эта область закрыта сигналом HOD, поэтому приведены только сигналы протонов H3' прочих остатков Тр.

*** H4'.

**** H5'a, H5'b.

***** JCH_2CH_3 7,0 Гц во всех случаях.



* [Tp'(Et)Tp]₄ синтезировали аналогично.

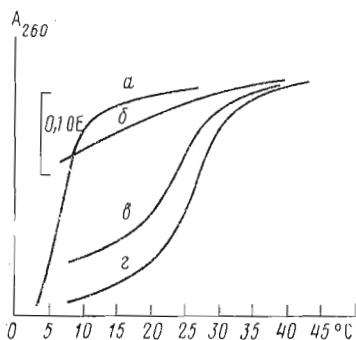


Рис. 3

Рис. 3. Профили плавления комплексов poly(A) с октатимидилатами [Tp'(Et)Tp]₄ (а), [Tp(Et)]₇Tp (б), (Tp)₈ (в), [Tp''(Et)Tp]₄ (з)

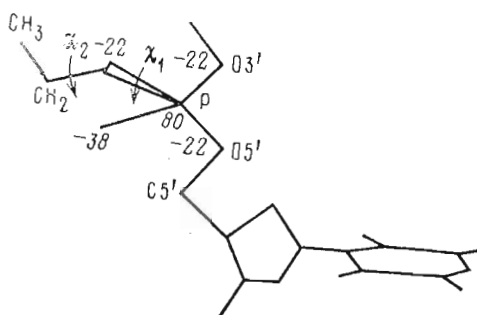
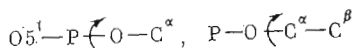


Рис. 4

Рис. 4. S_p-изомер модифицированной фосфатной группы. Цифры — величины зарядов на атомах (×10²) в единицах элементарного заряда. Углы вращения χ₁, χ₂ определены для связей



спектров (табл. 1, 3). Отнесение сигналов выполнено на основании данных работ [2, 11].

Установлено, что все четыре полученных октатимидилата образуют комплекс с poly(A). Температуры плавления составляют 6,0°С для [Tp'(Et)Tp]₄, 29,0°С для [Tp''(Et)Tp]₄, 25,0°С для (Tp)₈ и ~0°С для [Tp(Et)]₇Tp. Из приведенных кривых плавления (рис. 3) видно, что температуры плавления комплементарных комплексов [Tp'(Et)Tp]₄ и [Tp''(Et)Tp]₄ различаются более чем на 20°С, что качественно согласуется с теоретическими оценками (см. выше). При этом в случае [Tp''(Et)Tp]₄ в наших условиях температура плавления комплекса с poly(A) на 4°С выше, чем для комплекса (Tp)₈·poly(A). Низкую температуру плавления комплекса [Tp(Et)]₇Tp·poly(A) можно объяснить большой долей диастереомеров с «шевыгодной» конфигурацией в смеси. Вообще говоря, применение обращенно-фазовой хроматографии при выделении триэфирных производных может привести к обогащению смеси какой-либо фракцией диастереомеров (см. работы [2, 12]), т. е. мог не получиться статистически полный набор всех возможных диастереомеров [Tp(Et)]₇Tp.

Полученные нами результаты согласуются с литературными данными для $[\text{Tr}(\text{Et})]_7\text{T}$ и $[\text{Tr}(\text{Et})]_6\text{T}$ [4, 13], а также с данными для диастереомеров метилфосфонатного аналога декатимидилата с чередующимися фосфонатными и фосфодиэфирными связями [3].

Совокупность полученных теоретических и экспериментальных результатов свидетельствует, что наблюдаемое различие в стабильности комплексов есть следствие пространственной структуры этих комплексов. Для более полного изучения этого вопроса необходимо определить, как влияет конфигурация при триэфирном атоме фосфора на стабильность дуплексов в случае гетеропоследовательностей различного состава.

Экспериментальная часть

Расчеты выполнены методом молекулярной механики, потенциальную внутримолекулярную энергию дуплексов диастереомеров вычисляли в приближении атом-атомных взаимодействий [14]. Использованные ван-дер-ваальсовы, торсионные потенциалы и заряды атомов оснований и дезоксирибозофосфатного скелета аналогичны рекомендованным в работе [15]. Заряды на атомах модифицированной триэфирной фосфатной группы (см. рис. 4) найдены методом CNDO/2 с разложением дипольных моментов связей на заряды на атомах [16]. Заряды диэфирных фосфатных групп считали полностью нейтрализованными, как принято в ряде работ (см., например, [17]).

Конформации дуплексов оптимизированы по всем спиральным параметрам и углам вращения дезоксирибозофосфатного остова минидуплекса $\text{ArA} \cdot \text{Tr}(\text{Et})\text{T}$ с учетом подвижности дезоксирибозных колец по методике работы [18]. Торсионные углы дезоксирибозофосфатного остова антипараллельных цепей олигонуклеотидов считали различными. Влияние растворителя на конформацию дуплексов диастереомеров не учитывали.

Рассмотрим термодинамические выражения, определяющие связь изменения температуры плавления с термодинамическими функциями.

Пусть $G_{\#}(T, p')$ или $G_{\#}(T, p'')$ — свободные гиббсовские энергии диастереомеров (p') или (p'') в составе комплекса с $\text{poly}(\text{A})$ в растворе, а $G_{\#}(T, p')$, $G_{\#}(T, p'')$ — свободные энергии одноцепочечных диастереомеров вне комплекса соответственно. Температура плавления T_m определяется условием $G_{\#}(T) = G_{\#}(T)$, т. е. для диастереомеров (p') и (p'') имеем температуры плавления:

$$T_m(p') = \frac{H_{\#}(p') - H_{\parallel}(p')}{S_{\#}(p') - S_{\parallel}(p')}, \quad (1)$$

$$T_m(p'') = \frac{H_{\#}(p'') - H_{\parallel}(p'')}{S_{\#}(p'') - S_{\parallel}(p'')}, \quad (2)$$

где $H_{\#}$, H_{\parallel} и $S_{\#}$, S_{\parallel} — соответственно энтальпия и энтропия состояния диастереомеров в растворе в комплексе с $\text{poly}(\text{A})$ и вне комплекса. Поскольку разность температур плавления дуплексов диастереомеров $\Delta T_m = T_m(p') - T_m(p'')$ мала (порядка 20 К) по сравнению со средней температурой их плавления (порядка 300 К), очевидно, что и разности эквивалентных термодинамических функций малы по сравнению с их средними (по двум диастереомерам) значениями. Тогда с точностью до членов первого порядка малости получим

$$\frac{\Delta T_m}{\bar{T}_m} = - \left\{ \frac{[H_{\#}(p') - H_{\#}(p'')] - [H_{\parallel}(p') - H_{\parallel}(p'')]}{\bar{H}_{\#} - \bar{H}_{\parallel}} - \frac{[S_{\#}(p') - S_{\#}(p'')] - [S_{\parallel}(p') - S_{\parallel}(p'')]}{\bar{S}_{\#} - \bar{S}_{\parallel}} \right\}, \quad (3)$$

где черта сверху означает среднее значение для двух диастереомеров.

Исходя из общих соображений о специфичности взаимодействия оптического центра с окружением, мы вправе считать, что большая специфичность взаимодействия диастереомеров с окружающей средой имеет место в регулярном дуплексе, а не в случае разошедшихся цепей, так как в не-

упорядоченном состоянии специфичность взаимодействий этильного остатка в S_p - и R_p -изомерах с окружением усредняется. Следовательно,

$$|H_{\#}(p') - H_{\#}(p'')| \gg |H_{\#}(p') - H_{\#}(p'')| \text{ и} \\ |S_{\#}'(p') - S_{\#}(p'')| \gg |S_{\#}(p') - S_{\#}(p'')|.$$

Пренебрегая разностями термодинамических функций для диастереомеров с разошедшимися цепями по сравнению с разностями термодинамических величин для диастереомеров в составе дуплексов, формулу (3) можно существенно упростить:

$$\frac{\Delta T}{T_m} \approx - \left\{ \frac{H_{\#}(p') - H_{\#}(p'')}{\Delta \bar{H}_m} - \frac{S_{\#}(p') - S_{\#}(p'')}{\Delta \bar{S}_m} \right\}, \quad (4)$$

где $\Delta \bar{H}_m$ и $\Delta \bar{S}_m$ — средние энтальпия и энтропия плавления дуплексов poly(A) с разными диастереомерами.

Далее, разность энтальпий дуплексов диастереомеров в растворе $H_{\#}(p') - H_{\#}(p'') = \Delta H_{\#} = \Delta U_{\#} + p\Delta V$, где ΔV — разность удельных объемов растворов дуплексов диастереомеров. Так как давление $p \approx 1$ атм, то величина $p\Delta V \ll RT$ и $\Delta H_{\#} \approx \Delta U_{\#}$. Разность потенциальных энергий дуплексов диастереомеров $\Delta U_{\#}$ в свою очередь состоит из разности конформационной энергии дуплексов диастереомеров $\Delta U_{\#}^{(k)}$ и разности взаимодействия дуплексов диастереомеров с растворителем $\Delta U_{\#}^{(p)}$:

$$\Delta U_{\#} = \Delta U_{\#}^{(k)} + \Delta U_{\#}^{(p)}.$$

Таким образом, для относительной разности температуры плавления дуплексов диастереомеров с poly(A) имеем окончательное выражение:

$$\frac{\Delta T}{\langle \Delta T \rangle_m} \approx - \left\{ \frac{\Delta U_{\#}^{(k)}}{\langle \Delta H \rangle_m} + \frac{\Delta F_{\#}^{(p)}}{\langle \Delta H \rangle_m} - \frac{\Delta S_{\#}^{(k)}}{\langle \Delta S \rangle_m} \right\} = - \frac{F_{\#}^{(k)}}{\Delta H_m} - \frac{\Delta F_{\#}^{(p)}}{\Delta H_m}, \quad (5)$$

где $\Delta F_{\#}^{(k)}$ и $\Delta F_{\#}^{(p)}$ — разности свободных энергий дуплексов диастереомеров при температуре плавления без учета взаимодействия с растворителем и вклад растворителя соответственно. Расчет конформационной свободной энергии дуплексов выполнен по соотношению

$$F_{\#}^{(k)} = - RT \ln Z^{(k)}, \quad (6)$$

где $Z^{(k)}$ — статистическая сумма по оптимальным конформациям этильной группы в диастереомерах. Оценка влияния изменения свободной энергии гидратации $\Delta F_{\#}^{(p)}$ этильной группы в диастереомерах выполнена методом парциальных гидратных оболочек [7].

В работе использовали TPS-Cl, (Tr)T и (ClPh)pT(Lev) (ОХП НИОХ СО АН СССР), poly(A) (НИКТИ БАВ, г. Бердск), N-метилимидазол (Serva, ФРГ), абсолютные пиридин, хлороформ, ацетонитрил, триэтиламин. Колоночную хроматографию проводили на силикагеле L40/100 (Chemapol, ЧССР), ионообменную — на смоле аминосилхром AC-300 (ИЦИГ СО АН СССР), обращенно-фазовую — на смоле Lichrosorb 10RP18 (Merck, ФРГ). ВЭЖХ проводили с использованием хроматографа Altex, модель 322 (Beckman, США) (колонки 4,6 и 10×250 мм) и «Миляхром» (колонки 2×62 мм).

Спектры ^{31}P -ЯМР записывали на спектрометре НХ-90 (Bruker, ФРГ; рабочая частота 36, 43 МГц) в ампулах диаметром 10 мм при 30°С в условиях подавления гетероядерного спин-спинового взаимодействия $\{^1\text{H}\}$ - ^{31}P . Задержка между 90-градусными импульсами 4–6 с. Химические сдвиги приведены в миллионных долях относительно 85% H_3PO_4 . Для сигналов в более сильном поле, чем сигнал H_3PO_4 , приняты отрицательные значения. Спектры ^1H -ЯМР записывали на спектрометре WP-200SY (Bruker, ФРГ) в D_2O в ампулах диаметром 5 мм при 30°С. Задержка между 90-градусными импульсами 6 с. В качестве внутреннего стандарта использовали натриевую соль 2,2-диметил-2-силапентан-5-сульфоукислоты.

(Tr)Tp'(Et)Tp(ClPh) и (Tr)Tp''(Et)Tp(ClPh) получали как описано ранее [2].

$Tr'p'(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ и $Tr''p''(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ получали из $(Tr)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ и $(Tr)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ [2], удаляя тритильную защитную группу обработкой 80% уксусной кислотой при 100°С в течение 15 мин. Выделение продуктов проводили на колонке (4,5×9 см) с силикагелем, градиент концентрации метанола в хлороформе от 0 до 10%. Фракции, содержавшие основной нуклеотидный материал, упаривали, растворяли в 1 мл хлороформа и осаждали в 10 мл гексана. Осадки отделяли центрифугированием и сушили над P_2O_5 . Выход 85%.

$(Tr)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ и $(Tr)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ получали по методу [19]. К смеси 0,45 ммоль $(Tr)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)$ и 0,4 ммоль $Tr'p'(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ добавляли 1,5 ммоль TPS-Cl и выдерживали в вакууме над P_2O_5 в течение 1 ч. Смесь растворяли в 3,5 мл абсолютного хлороформа и к полученному раствору добавляли 230 мкл N-метилимидазола. Через 15 мин смесь разбавляли в 3 раза хлороформом и наносили на колонку (6×15 см) с силикагелем. Элюцию проводили с использованием линейного градиента концентрации метанола в хлороформе от 0 до 10% (общий объем градиента 2 л). Фракции, содержащие $(Tr)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$, объединяли, упаривали, остаток растворяли в 3 мл хлороформа и выливали в 50 мл гексана. Осадок отделяли центрифугированием и сушили над P_2O_5 . Получили 0,33 ммоль (81%) $(Tr)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$. Аналогично из 0,3 ммоль $(Tr)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)$ и 0,28 ммоль $Tr''p''(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ получили 0,20 ммоль (71%) $(Tr)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$.

$(Tr)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)$. 2-Дианэтильную защитную группу с $(Tr)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ и $(Tr)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ удаляли по [20] обработкой смесью абсолютных триэтиламина и ацетонитрила в течение 1 ч при 20°С. Раствор упаривали, остаток растворяли в абсолютном пиридине и осаждали в смесь пентан — диэтиловый эфир (1:1). Осадок отделяли центрифугированием и сушили над P_2O_5 . Выход продукта после удаления 2-дианэтильной защитной группы составил не менее 90%.

$Tr'p'(Et)Tp(ClPh)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ и $Tr''p''(Et)Tp(ClPh)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ получали после удаления тритильной защитной группы в $(Tr)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ и $(Tr)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ соответственно, как описано выше. Продукты реакции выделяли колоночной хроматографией на силикагеле (линейный градиент концентрации метанола в хлороформе от 0 до 10%). Фракции, соответствующие основному веществу, упаривали, растворяли в абсолютном пиридине (50 мкл) и осаждали в смесь пентан — диэтиловый эфир (1:1; 1,5 мл). Осадок отделяли центрифугированием и сушили над P_2O_5 . Выход продукта после удаления тритильной защитной группы составлял не менее 80%.

$(Tr)[Tr'p'(Et)Tp(ClPh)]_3Tr'p'(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ и $(Tr)[Tr''p''(Et)Tp(ClPh)]_3Tr''p''(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ получали конденсацией 15 мкмоль $(Tr)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)$ и 15 мкмоль $Tr'p'(Et)Tp(ClPh)Tr'p'(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ или 10 мкмоль $(Tr)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)$ и 10 мкмоль $Tr''p''(Et)Tp(ClPh)Tr''p''(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ соответственно в присутствии TPS-Cl и N-метилимидазола аналогично методу [19], используя в качестве растворителя абсолютный пиридин. Продукты выделяли на колонке (3×6 см) с силикагелем (линейный градиент концентрации метанола в хлороформе от 0 до 10%, общий объем 0,5 л). Получили 10 мкмоль (67%) $(Tr)[Tr'p'(Et)Tp(ClPh)]_3Tr'p'(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ и 5 мкмоль (50%) $(Tr)[Tr''p''(Et)Tp(ClPh)]_3Tr''p''(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$.

$[Tr'p'(Et)Tp]_4$ и $[Tr''p''(Et)Tp]_4$. 10 мкмоль $(Tr)[Tr'p'(Et)Tp(ClPh)]_3Tr'p'(Et)Tp(ClPh)(CNEt)$ обрабатывали 1 мл 0,66 М $(n-C_4H_9)_4NF$ в смеси пиридин — вода (1:1) в течение 3 ч при 40°С [21]. Смесь упаривали, добавляли 2 мл 25% водного аммиака и выдерживали 18 ч при 20°С, упаривали и обрабатывали 80% уксусной кислотой для удаления тритильной защитной группы (см. выше). Смесь упаривали, остаток растворяли в 40 мл

30% водного ацетонитрила и хроматографировали на ионообменной смоле аминсилохром АС-300 (колонка 1,5×30 см). Элюцию проводили с использованием линейного градиента концентрации фосфатного буфера (рН 6,6) от 0 до 0,03 М в 30% водном ацетонитриле (объем градиента 0,5 л). Фракции, содержащие основное вещество с большим зарядом по данным ионообменной микроколоночной хроматографии на аминсилохроме АС-300 [22], чем $[\text{Tr}'(\text{Et})\text{Tr}]_3\text{Tr}'(\text{Et})\text{Tr}(\text{ClPh})$ (получен из $(\text{Tr})[\text{Tr}'(\text{Et})\text{Tr} \cdot (\text{ClPh})]_3\text{Tr}'(\text{Et})\text{Tr}(\text{ClPh})(\text{CNEt})$ обработкой *n*-нитробензальдоксиматом в системе пиридин — вода (1:1) [23] и 80% уксусной кислотой (см. выше)), упаривали и дополнительно очищали методом обращенно-фазовой ВЭЖХ (хроматограф Altex) на колонке со смолой Lichrosorb 10RP18 (линейный градиент концентрации метанола от 20 до 60% в водном 0,05 М LiClO_4). Литиевую соль $[\text{Tr}'(\text{Et})\text{Tr}]_4$ осаждали из 100 мкл воды в 1,5 мл 2% раствора LiClO_4 в ацетоне, осадок отделяли центрифугированием, промывали 3 раза ацетоном и высушивали над P_2O_5 . Данные спектров ^1H -ЯМР и ^{31}P -ЯМР приведены в табл. 2, 3. Выделено 3,9 мкмоль (39%) $[\text{Tr}'(\text{Et})\text{Tr}]_4$. Коэффициент молярного поглощения $[\text{Tr}'(\text{Et})\text{Tr}]_4$ принимали равным $64\,000 \text{ M}^{-1} \cdot \text{см}^{-1}$ при 260 нм. Аналогично из 5 мкмоль $(\text{Tr}) \cdot [\text{Tr}''(\text{Et})\text{Tr}(\text{ClPh})]_3\text{Tr}''(\text{Et})\text{Tr}(\text{ClPh})(\text{CNEt})$ получили 0,8 мкмоль (16%) $[\text{Tr}''(\text{Et})\text{Tr}]_4$. Данные спектров ^1H -ЯМР и ^{31}P -ЯМР приведены в табл. 2, 3. Подвижность $[\text{Tr}'(\text{Et})\text{Tr}]_4$ совпала с подвижностью $[\text{Tr}''(\text{Et})\text{Tr}]_4$ при анализе методом ионообменной хроматографии в микромасштабе (хроматограф «Милихром»).

$(\text{Tr})\text{Tr}(\text{ClPh})\text{T}(\text{Lev})$ получали конденсацией $(\text{Tr})\text{T}$ и $(\text{ClPh})\text{pT}(\text{Lev})$ в присутствии TPS-Cl и *N*-метилимидазола аналогично методу [19].

$(\text{Tr})\text{Tr}(\text{ClPh})\text{Tr}(\text{ClPh})(\text{CNEt})$ получали после удаления левулинильной группы с $(\text{Tr})\text{Tr}(\text{ClPh})\text{T}(\text{Lev})$ по методу [24] и последующего фосфорилирования $(\text{Tr})\text{Tr}(\text{ClPh})\text{T}$ *n*-хлорфенилфосфобистриазолидом (см. [2]).

$(\text{Tr})[\text{Tr}(\text{ClPh})]_7\text{Tr}(\text{ClPh})(\text{CNEt})$ получали последовательной конденсацией соответственно защищенных ди- и тетрауклеотидных блоков в присутствии TPS-Cl и *N*-метилимидазола в хлороформе [19].

$(\text{Tr})_8$. 100 мг $(\text{Tr})[\text{Tr}(\text{ClPh})]_7\text{Tr}(\text{ClPh})(\text{CNEt})$ обрабатывали 0,66 М $(n\text{-C}_4\text{H}_9)_4\text{NF}$ в смеси пиридин — вода (1:1) согласно работе [21], упаривали, обрабатывали 25% водным аммиаком при 50°С, упаривали, удаляли тритильную защитную группу как описано выше, упаривали, растворяли в воде и хроматографировали на колонке с анионообменной смолой (градиент концентрации калий-фосфатного буфера (рН 6,5) в 30% водном ацетонитриле от 0 до 0,3 М). Фракции вещества с наибольшим временем удерживания собирали, упаривали и хроматографировали на колонке с обращенно-фазовой смолой (градиент концентрации ацетонитрила в 0,05 М LiClO_4 в воде (0—20%)). Ионообменную и обращенно-фазовую хроматографии проводили на хроматографе Altex. Выделили 300 ОЕ₂₆₀ $(\text{Tr})_8$ (*Li*-соль). После обращенно-фазовой хроматографии фракцию, содержащую $(\text{Tr})_8$, упаривали, растворяли в 50 мкл воды и выливали в 1 мл 2% раствора LiClO_4 в ацетоне. Осадок отделяли центрифугированием, промывали ацетоном и сушили. Данные ^1H -ЯМР-спектра приведены в табл. 3.

$(\text{Tr})[\text{Tr}(\text{ClPh})]_7\text{T}(\text{Lev})$ получали конденсацией соответствующим образом защищенных ди-, тетра- и гексануклеотидных блоков в присутствии TPS-Cl и *N*-метилимидазола в хлороформе [19].

$(\text{Tr})[\text{Tr}(\text{Et})]_7\text{T}(\text{Lev})$ получали переэтерификацией $(\text{Tr})[\text{Tr}(\text{ClPh})]_7\text{T}(\text{Lev})$ в присутствии CsF и этанола по методу [25]. Выход полностью этилированного продукта составил 50%.

$(\text{Tr})[\text{Tr}(\text{Et})]_7\text{Tr}(\text{ClPh})(\text{CNEt})$ получали после удаления левулинильной группы с $(\text{Tr})[\text{Tr}(\text{Et})]_7\text{T}(\text{Lev})$ по методу [24] и последующего фосфорилирования $(\text{Tr})[\text{Tr}(\text{Et})]_7\text{T}$ *n*-хлорфенилфосфобистриазолидом аналогично методу [2].

$[\text{Tr}(\text{Et})]_7\text{Tr}$. 50 мг $(\text{Tr})[\text{Tr}(\text{Et})]_7\text{Tr}(\text{ClPh})(\text{CNEt})$ обрабатывали раствором $(n\text{-C}_4\text{H}_9)_4\text{NF}$ аналогично работе [21], упаривали, добавляли 2 мл 25% водного аммиака, выдерживали в течение 1 сут при 5°С, упаривали, обрабатывали 80% уксусной кислотой для удаления тритильной защитной группы (как описано выше), упаривали, растворяли в воде и хроматогра-

фиrowали на колонке с обращенно-фазовой смолой (градиент концентрации ацетонитрила (0–50%) в 0,05 М LiClO₄ (хроматограф Altex)). Фракции основного вещества собирали, разбавляли водой в 3 раза, обессоливали на колонке со смолой Lichrospher 30RP18, смывая вещество с колонки 50% водным ацетонитрилом. Получили 250 ОЕ₂₆₀ [Tr(Et)]₇Tr (Li-соль). Данные ¹H-ЯМР-спектра приведены в табл. 3.

Плавление комплексов poly(A) с октаимидилатами [Tr'(Et)Tr]₈, [Tr''(Et)Tr]₈, (Tr)₈ и [Tr(Et)]₇Tr проводили в 0,01 М натрий-фосфатном буфере (рН 7,4), содержащем 0,2 М NaCl, 0,01 М MgCl₂. Концентрация poly(A) — 3,6·10⁻⁵ М, октаимидилатов — 3,6·10⁻⁵ М (в расчете на мононуклеотид). Коэффициент молярного поглощения poly(A) принимали равным 9100 М⁻¹·см⁻¹ при 260 нм в расчете на мононуклеотид согласно работе [26]. Плавление осуществляли на установке для плавления микроколичеств на базе хроматографа «Милихром» [27] со скоростью 0,75–1,5 град/мин. За точку плавления принимали точку перегиба кривой плавления. Точность определения температуры плавления ±0,5° С.

ЛИТЕРАТУРА

1. Абрамова Т. В., Кнорре Д. Г., Лебедев А. В., Пичко Н. П., Федорова О. С. Биоорган. химия, 1985, т. 11, № 12, с. 1642–1649.
2. Абрамова Т. В., Лебедев А. В. Биоорган. химия, 1983, т. 9, № 6, с. 824–831.
3. Miller P. S., Braiterman L. T., Ts'O P. O. P. Biochemistry, 1977, v. 16, № 9, p. 1988–1996.
4. Pless C. R., Ts'O P. O. P. Biochemistry, 1977, v. 16, № 6, p. 1239–1250.
5. Miller P. S., Dreon N., Pulford S. M., McParland K. B. J. Biol. Chem., 1980, v. 255, № 20, p. 9659–9665.
6. Березин И. В., Мартинек К. Основы физической химии ферментативного катализа. М.: Высш. школа, 1977, с. 52.
7. Forsythe K. H., Hopfinger A. J. Biomolecular structure conformation, function and evolution. Proc. of Int. Symp., Madras, 1978.
8. Данилина Н. Г., Громова Е. С. Успехи химии, 1983, т. LII, № 61, с. 138–167.
9. Лебедев А. В., Резвукин А. И. Биоорган. химия, 1983, т. 9, № 2, с. 149–185.
10. Lebedev A. V., Rezvukhin A. I. Nucl. Acids Res., 1984, v. 12, № 14, p. 5547–5566.
11. Wood D. J., Hruska F. E., Ogilvie K. K. Can. J. Chem., 1974, v. 52, № 18, p. 3353–3366.
12. Абрамова Т. В., Комарова Н. И., Лебедев А. В., Тагай С. А. Биоорган. химия, 1984, т. 10, № 10, с. 1366–1370.
13. Данилюк Н. К., Петренко В. А., Поздняков П. И., Попов С. Г., Сиволобова Г. Ф., Шубина Т. Н. Молекуляр. биология, 1982, т. 16, № 5, с. 1116–1120.
14. Дашевский В. Г. Конформационный анализ органических молекул. М.: Химия, 1982.
15. Журкин В. Б., Полтев В. И., Флорентьев В. Л. Молекуляр. биология, 1980, т. 14, вып. 5, с. 1116–1130.
16. Межмолекулярные взаимодействия: от двухатомных молекул до биополимеров/Ред. В. Пюльман. М.: Мир, 1981.
17. Журкин В. Б., Ульянов Н. Б. Молекуляр. биология, 1984, т. 18, № 6, с. 1664–1685.
18. Воробьев Ю. Н. Молекуляр. биология, 1983, т. 17, № 1, с. 181–191.
19. Зарыгова В. Ф., Иванова Е. М., Романенко В. П. Биоорган. химия, 1982, т. 9, № 4, с. 516–521.
20. Gait M. J., Popov S. G., Singh M., Titmas R. C. Nucl. Acids Res., 1980, Symp. Ser., № 7, p. 243–257.
21. Бауск Е. В., Горн В. В., Лебедев А. В. Биоорган. химия, 1985, т. 11, № 6, с. 815–820.
22. Baran G. I., Grachev M. A., Komarova N. I., Perelroyzen M. P., Bolvanov Yu. A., Kuzmin S. V., Kargaltsev V. V., Kuper E. A. J. Chrom., 1983, v. 264, № 1, p. 69–90.
23. Силяков А. Н., Ломанин А. И., Ямщиков В. Ф., Попов С. Г. Биоорган. химия, 1982, т. 8, № 4, с. 490–498.
24. van Boon J. H., Burgers P. B. I. Tetrahedron Lett., 1976, № 52, p. 4875–4878.
25. Петренко В. П., Поздняков П. И., Сиволобова Г. Ф., Шубина Т. Н. Биоорган. химия, 1980, т. 6, № 3, с. 431–435.
26. Miller P. S., Chagasgaran S., Dow D. L., Pulford S. M., Kan L. S. Biochemistry, 1982, v. 21, № 22, p. 5468–5474.
27. Grachev M. A., Perelroyzen M. P. Nucl. Acids Res., 1978, v. 5, № 7, p. 2557–2564.

Поступила в редакцию
26.VII.1985
После доработки
31.I.1986

INVESTIGATION OF DIASTEREOMERS OF NONIONIC OLIGONUCLEOTIDE
ANALOGUES. IV. INFLUENCE OF CONFIGURATION AT ASYMMETRIC
PHOSPHORUS ATOMS IN ETHYL ESTERS OF DEOXYOLIGOTHYMYDYLATES
ON THE STABILITY OF THEIR COMPLEXES WITH poly (dA)

ABRAMOVA T. V., VOROB'EV Yu. N., LEBEDEV A. V.

*Novosibirsk Institute of Bioorganic Chemistry, Siberian Branch
of the Academy of Sciences of the USSR, Novosibirsk*

The derivatives of octathymidylate $[\text{Tp}'(\text{Et})\text{Tp}]_4$, $[\text{Tp}''(\text{Et})\text{Tp}]_4$, $(\text{Tp})_8$ and $[\text{Tp}(\text{Et})]_7\text{Tp}$ (where p' and p'' correspond to enantiomeric configurations at the phosphorus atom in the phosphotriester fragment) have been synthesized. Melting temperatures of complexes of these octathymidylates with poly(dA) were found to be equal to 6, 29, 25, and 0°C, respectively. The most stable B-forms of complementary complexes of poly(dA) and diastereomers of ethyl triesters of oligothymidylates with R_p - and S_p -configurations of substituents were determined by the method of molecular mechanics. The energy of the complex with S_p -stereomer was lower than that of the complex with R_p -stereomer by 1–1.5 kcal/mol (calculated for one triester fragment), while the melting temperature was respectively higher.