



УДК 577.113.4

РЕАКЦИОННОСПОСОБНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ
ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ, СОДЕРЖАЩИХ МЕТИЛФОСФОНАТНЫЕ
ГРУППЫI. СИНТЕЗ И РАЗДЕЛЕНИЕ ДИАСТЕРЕОМЕРОВ
5'-О-ДИМЕТОКСИТРИТИЛТИМИДИЛИЛ(3'-МЕТИЛФОСФОНО-
5')ТИМИДИН-3'-О-β-ЦИАНЭТИЛ-S-МЕТИЛТИОФОСФАТА

Амирханов Н. В., Зарытова В. Ф.

Новосибирский институт биоорганической химии
Сибирского отделения Академии наук СССР

При конденсации [(MeO)₂Tr]Tr (p – метилфосфонатный остаток) и Tr(SCH₃, CNEt) в присутствии смеси TPS и MeIm с выходом 92% получен динуклеотидный блок [(MeO)₂Tr]TrTr (SCH₃, CNEt), который разделили затем на диастереомеры, охарактеризованные ³¹P-ЯМР-, ПМР- и УФ-спектрами. Абсолютные конфигурации полученных диастереомеров определены соотношением с конфигурациями известных диастереомеров динуклеозидметилфосфоната (MeOTr)TrT(As).

Реакционноспособные производные олигонуклеотидов нашли широкое применение для изучения комплементарно-адресованной модификации нуклеиновых кислот [1–5]. Большая часть результатов получена с применением производных дезоксирибонуклеотидов, содержащих в качестве алкилирующей группировки остаток азотистого иприта. Однако такие производные в силу наличия природных фосфодиэфирных групп плохо проникают через клеточные мембраны и легко гидролизуются нуклеазами [6]. Более перспективны в этом плане производные с блокированными межнуклеотидными фосфатными группами [7]. Такие аналоги олигонуклеотидов легче проникают внутрь клеток и в меньшей степени подвержены действию нуклеаз [8, 9]. Алкилирующие производные получены и исследованы только в случае этиловых эфиров олигонуклеотидов [3]. Однако, по данным Миллера и соавт. [10], метилфосфонатные аналоги олигонуклеотидов более устойчивы к действию нуклеаз по сравнению с этиловыми эфирами. Поэтому синтез реакционноспособных производных метилфосфонатных аналогов олигонуклеотидов является важным этапом при изучении направленного воздействия на геном. Известно, что введение СН₃- или других группировок по межнуклеотидным фосфатным группам олигонуклеотида приводит к образованию смеси диастереомеров, способных образовывать комплементарные комплексы различной стабильности [3, 11, 12]. Поэтому, чтобы оценить влияние метилфосфонатных групп реагента на его способность к модификации ИК-мишени, необходимо иметь реагенты на основе стереохимически индивидуальных аналогов олигонуклеотидов.

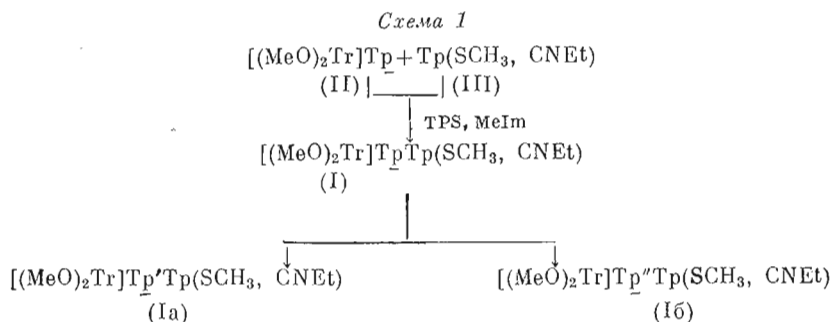
Поскольку реакционноспособную группировку в дезоксирибонуклеотид удобно вводить по 3'- или 5'-концевому фосфату, для создания реагентов на основе олигонуклеотидов, содержащих метилфосфонатные фрагменты, важно иметь соответствующие исходные блоки.

В данной работе представлен простой способ синтеза динуклеотида [(MeO)₂Tr]TrTr(SCH₃, CNEt) (I) и разделения его на изомерные метил-

Сокращения: (MeO)₂Tr – n,n'-диметокситритил, MeOTr – n-монометокситритил, CNEt – 2-цианэтил, TPS – 2,4,6-триизопропилбензолсульфохлорид, MeIm – N-метил-имидазол, p – метилфосфонатный остаток. Обозначения p' и p'' относятся к энантиомерным конфигурациям соединений Tr'T и Tr''T и указывают на порядок элюции соответствующих защищенных производных при хроматографии на силикагеле.

фосфонаты, пригодные для получения олигонуклеотидов с чередующимися фосфодиэфирными и метилфосфонатными группами.

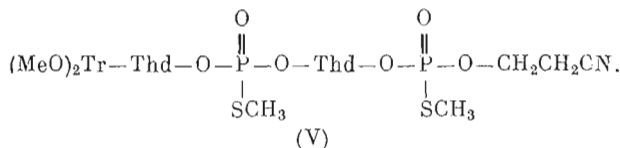
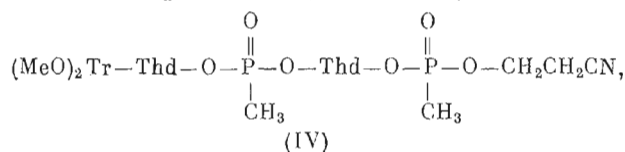
Динуклеотид (I) был получен конденсацией двух мономеров (II) (P-компонент) и (III) (OH-компонент) (схема 1). Мономеры, содержащие SCH₃-группу, ранее были успешно использованы в триэфирном олигонуклеотидном синтезе [13, 14]. Было показано, что SCH₃-группа устойчива в условиях конденсации и с 3'-концевого фосфодиэфирного остатка селективно удаляется обработкой иодом [13]*. Конденсацию производных (II) и (III) осуществляли в присутствии смеси TPS и MeIm [15, 16] в абсолютном пиридине (1 ч, 20° С).



Полученный динуклеотид (I) разделяли на диастереомеры. Динуклеотид (I) имеет два асимметричных остатка фосфора и состоит из четырех диастереомеров. Действительно, анализ динуклеотида (I) микроколоночной хроматографией (МКХ) на силикагеле выявляет наличие четырех пиков. Два sdвоенных пика в использованных нами условиях хорошо разделяются (рис. 1а). Эти пары продуктов были разделены препаративной хроматографией на силикагеле с последующей проверкой их чистоты МКХ (рис. 1б, в).

На рис. 2 представлены ³¹P-ЯМР-спектры исходного динуклеотида (I) и разделенных изомеров (Iа) и (Iб). В исходном динуклеотиде (I) (рис. 2а) регистрируются четыре сигнала. Спектры разделенных изомеров (Iа) и (Iб) (рис. 2б, в) однотипны и различаются лишь значениями химических сдвигов сигналов. В обоих случаях регистрируется одиночный сигнал в области 32–33 м.д. и два близко расположенных сигнала в области 30–31 м.д.

С целью однозначного отнесения этих сигналов по известным методикам [11, 14] были синтезированы динуклеотиды (IV) и (V):



Динуклеотид (IV), содержащий лишь P-CH₃-фрагменты, в спектре ³¹P-ЯМР имеет сигналы в области 32–33 м.д., а динуклеотид (V), содержащий только P-SCH₃-группы, — в области 30–31 м.д. Эти данные свидетельствуют в пользу того, что в случае динуклеотида (I) сигналы в области 32–33 м.д. принадлежат межнуклеотидному метилфосфонатному

* Это позволяет использовать S-метильную группу (в отличие от *n*-хлорфенильной [11]) в качестве 3'-концевой фосфатной защиты при манипуляциях с полностью деблокированным олигонуклеотидом с последующей возможностью получить олигонуклеотид с «открытой» 3'-концевой фосфатной группой.

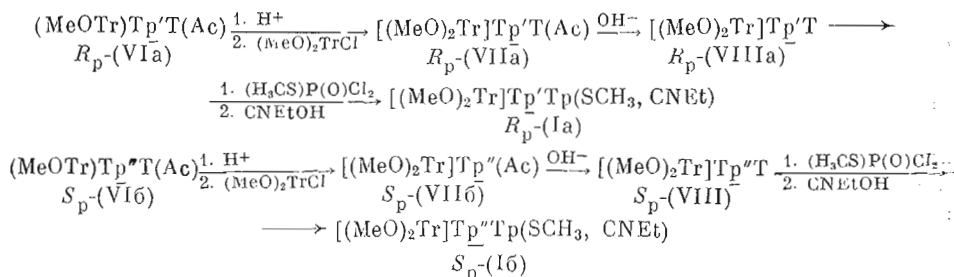
фрагменту, а в области 30–31 м.д. — метилтиофосфатной группе. Из рис. 2 также следует, что при хроматографии на силикагеле динуклеотида (I) происходит полное разделение метилфосфонатных диастереомеров. Диастереомеры по концевой P-SCH₃, CNEt-группе разделяются значительно хуже. Однако в данном случае это необязательно, так как концевая фосфатная группа динуклеотида (I) в дальнейшем подвергается децианэтированию перед использованием (Ia) и (Iб) в синтезе чередующих метилфосфонатных олигомеров. Полученные результаты свидетельствуют, что наличие P-SCH₃, CNEt-группировки обеспечивает не только синтез олигонуклеотидов с 3'-концевым фосфатом [13], но и способствует разделению диастереомеров с межнуклеотидным метилфосфонатом: например, при хроматографии известного динуклеозидметилфосфоната [(MeO)₂Tr]TpT(Ac) (VII) [17] отделение диастереомеров друг от друга происходит лишь на 60–70%. Влияние 3'-концевых заместителей, содержащих CH₃-группы, на разделение диастереомерных динуклеозидметилфосфонатов отмечалось ранее [18].

Таким образом нами синтезированы соединения (Ia) и (Iб), представляющие собой индивидуальные диастереомеры по метилфосфонатным остаткам, каждый из которых в свою очередь является смесью диастереомеров, образованных с участием метилтиофосфатных групп (I'a)+(I''a) и (I'б)+(I''б) соответственно.

Характеристики выделенных соединений приведены в табл. 1, 2 и на рис. 1, 2. Видно, что соединение (Ia) по сравнению с (Iб) быстрее движется при хроматографии на силикагеле и имеет более сильнополюсный химический сдвиг сигнала метилфосфонатного фрагмента. В случае динуклеозидметилфосфонатов аналогичные закономерности авторы работы [19] связывают с R_p-конфигурацией диастереомера.

Для соотношения абсолютных конфигураций атомов фосфора в метилфосфонатных остатках диастереомеров (Ia) и (Iб) и диастереомеров (MeOTr)Tp'T(Ac) (VIa) и (MeOTr)Tp''T(Ac) (VIб) [19] был проведен встречный синтез соединений (Ia) и (Iб) исходя из индивидуальных диастереомеров (VIa) и (VIб) с R_p- и S_p-конфигурациями соответственно по схеме 2.

Схема 2



Сначала из 5'-O-монометокситрильных производных (VIa) и (VIб) были получены 5'-O-диметокситрильные производные (VIIa) и (VIIб) [17], превращенные после удаления 3'-O-ацетильной защитной группы и фосфорилирования образовавшихся соединений (VIIIa) и (VIIIб) в соответствующие производные (Ia) и (Iб).

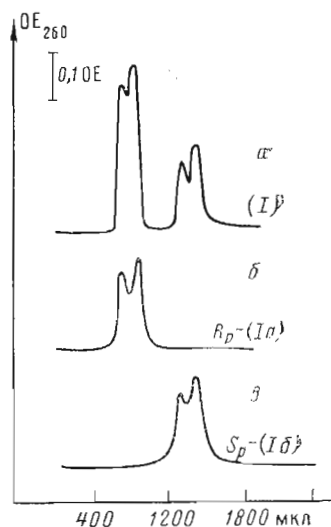


Рис. 1. Профили микроколоночной хроматографии динуклеотидов на колонке (2×50 мм) с силикагелем: а — динуклеотид (I), б, в — разделенные диастереомеры (Ia) и (Iб). Элюент — 4% этанол в хлороформе. Скорость элюции 100 мкл/мин

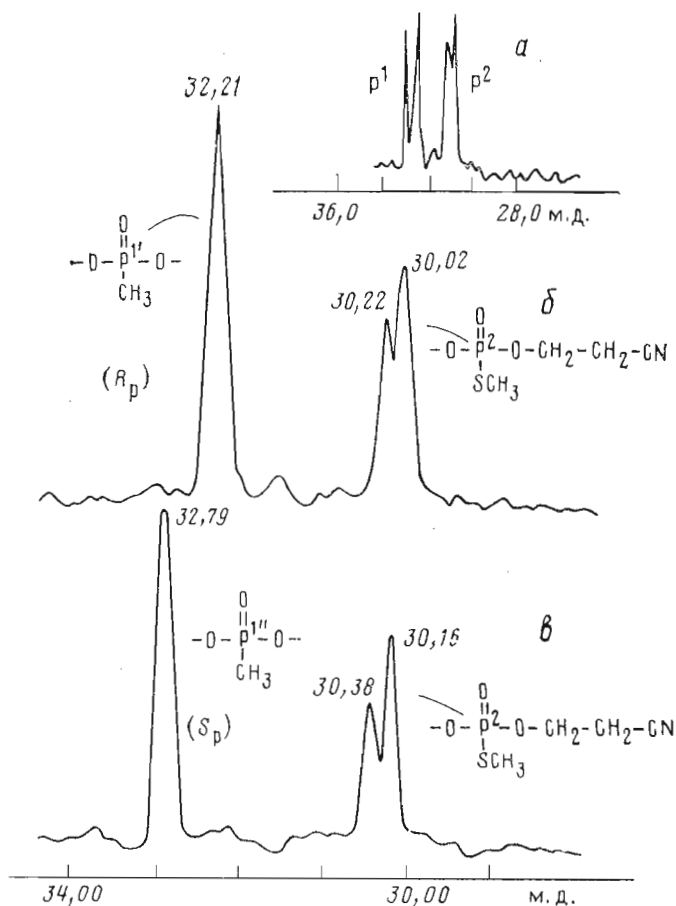
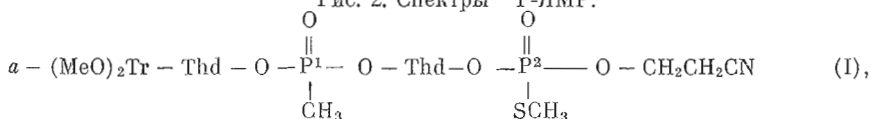


Рис. 2. Спектры ^{31}P -ЯМР:



β , σ - его стереомеры (1а) и (1б) в CHCl_3 . Концентрация дитимвдилатов 0,05; 0,25 и 0,25 М соответственно, объем 2 мл, диаметр ампулы 10 мм

Предварительно изомеры (VIa) и (VIб), использованные нами в качестве исходных соединений, были получены исходя из $(\text{MeOTr})\text{TrT}$ после 3'-О-ацетилирования последнего и разделения соответствующих изомеров полученного таким образом динуклеозидметилфосфоната $(\text{MeO})\text{TrTrT}(\text{Ac})$ (VI). Значения R_f синтезированных соединений (VIa) и (VIб) совпадают с ранее полученными данными для них [19]. По аналогии с результатами этой же работы [19] изомеру с большей подвижностью (R_f 0,32) соответствует более сильнополюсный сигнал в спектрах ^{31}P -ЯМР (δ 31,2 м.д.), а изомеру с меньшей подвижностью (R_f 0,27) — более слабополюсный сигнал (δ 31,7 м.д.). Разница в значениях химических сдвигов этих диастереомеров, как и в работе [19], составляет 0,5—0,6 м.д. Результаты, несмотря на некоторое несоответствие абсолютного значения химических сдвигов сигналов для изомеров (VIa) и (VIб), полученных нами и приведенных в работе [19] *, позволяют считать, что мы имеем дело с R_p -конфигурацией изомера (VIa) и S_p -конфигурацией динуклеозидметилфосфоната (VIб).

Поскольку метилфосфонатный фрагмент при синтезе (1а) и (1б) по схеме 2 не участвовал в химических превращениях, можно полагать, что

* Что, вероятно, связано с не совсем идентичными условиями записи спектров.

Физико-химические характеристики соединений (Ia) и (Iб) *

Диастереомеры	Абсолютная конфигурация метилфосфонатного фрагмента	Химические сдвиги, (м.д.) ^{2*} ³¹ P-ЯМР		R ^{3*} M (система В)	Характеристики УФ-спектров ^{4*}				Относительное содержание изомеров, %	
		PCH ₃	PSCCH ₃		λ _{max} (нм)	λ _{min} (нм)	$\frac{\epsilon_{236}}{\epsilon_{267}}$	$\frac{\epsilon_{250}}{\epsilon_{267}}$	по дан-ным ³¹ P-ЯМР	по количеству выделенных продуктов
(Ia)	R _p	32,2	30,2 30,0	0,82	236 (плечо), 267	251	1,26	0,85	53	56
(Iб)	S _p	38,8	30,4 30,2	0,72	236 (плечо), 267	251	1,23	0,86	47	44

* Соединение (I а) представляет собой смесь диастереомеров [(MeO)₂Tr] Tr' Tr' (SCH₃, CNEt) (I' а) и [(MeO)₂Tr] Tr' Tr'' (SCH₃, CNEt) (I'' а), а соединения (Iб) — [(MeO)₂Tr] Tr'' Tr' (SCH₃, CNEt) (I'б) и [(MeO)₂Tr] Tr'' Tr'' (SCH₃, CNEt) (I''б) соответственно.

^{2*} Химические сдвиги даны относительно 85% H₃PO₄, растворитель — CHCl₃.

^{3*} Подвижность относительно [(MeO)₂Tr] T.

^{4*} В 95% этаноле.

Таблица 2

Химические сдвиги (δ, м.д.) в спектрах ¹H-ЯМР Tr' Tr' (SCH₃), Tr'' Tr' (SCH₃) протонов гетероциклических оснований, а также PCH₃- и PSCCH₃- групп (0,1 М калий-фосфатный буфер, рD 6,5) *

Соединение	Tr			pT			PCH ₃ **	PSCCH ₃ **
	6-H	5-CH ₃	1-H	6-H	5-CH ₃	1-H		
Tr' Tr' (SCH ₃)	7,56	1,89	6,29	7,83	1,89	6,35	1,75 (17,0)	2,22 (13,0)
Tr'' Tr' (SCH ₃)	7,55	1,92	6,26	7,64	1,90	6,32	1,78 (17,0)	2,23 (13,0)

* Tr' Tr' SCH₃ и Tr'' Tr' SCH₃ получены из (Ia) и (Iб) соответственно последовательным удалением 5'-О-диметокситрилитильной и β-цианэтильной защитных групп.

** В скобках приведены значения констант спин-спинового взаимодействия J в герцах.

инверсии при атоме фосфора этого фрагмента не произошло. В соответствии с данными для изомеров (VIa) и (VIб) [19] метилфосфонатным фрагментам соединений (Ia) и (Iб) можно приписать конфигурации R_p и S_p соответственно.

Исходя из полученных в данной работе полностью защищенных динуклеотидов (I), (Ia), (Iб), (IV) и (V) были синтезированы четыре октатимидилатные последовательности: Tr (Tr Tr')₃ Tr' SCH₃, Tr (Tr Tr')₃ · Tr' SCH₃, Tr (Tr Tr'')₃ Tr' SCH₃ и Tr (Tr Tr'')₃ Tr' SCH₃. Подробное описание синтеза, характеристики и свойства полученных октатимидилатов будут опубликованы в следующем сообщении.

Экспериментальная часть

В работе использованы 2,4,6-триизопропилбензолсульфохлорид, 1,2,4-триазол, абсолютный пиридин — препараты опытного химического производства НИОХ СО АН СССР, N-метилимидазол (Serva, ФРГ). Тонко-слойную хроматографию осуществляли на пластинках Kieselgel F 60/254 (Merck, ФРГ) в системах: хлороформ — метанол, 9,5 : 0,5 (A); хлороформ —

этанол, 9:1 (Б); хлороформ — этанол, 6:1 (В); приведена подвижность (R_m) относительно [(MeO)₂Tr]Т. Колоночную хроматографию проводили на силикагеле L 40/100 (Chemapol, ЧССР).

Спектры ³¹P-ЯМР снимали в импульсном режиме с фурье-преобразованием на спектрометре НХ-90 (Bruker, ФРГ) (рабочая частота 36,43 МГц). Химические сдвиги приведены в миллионных долях относительно 85% Н₃Р₄ при 36° С. Спектры ¹H-ЯМР записывали на спектрометре WP-200 (Bruker, ФРГ) в D₂O при 30° С. В качестве внутреннего стандарта использовали натриевую соль 2-2'-диметил-2-силапентап-5-сульфонокислоты.

УФ-спектры снимали на спектрофотометре Specord M-40 (Karl Zeiss, ГДР). Препаративную хроматографию для разделения диастереомеров проводили на колонке с силикагелем Silasorb 600 LC, 10 мкм (Chemapol, ЧССР), микроколоночную — на хроматографе «Обь-4». Тр(SCH₃, CNEt) (III) [14], [(MeO)₂Tr]Тр (II) [20], Тр(CNEt) [20] были получены по известным литературным методикам. Тритильные защитные группы удаляли обработкой 80% уксусной кислотой [21] (4 ч, 20° С либо 30 мин, 60° С). 3'-О-Ацетильную защитную группу удаляли как описано в работе [22].

(MeOTr)ТрТ был получен путем фосфорилирования (MeOTr)Т дихлорметилфосфонатом с последующей конденсацией с тимидином в присутствии N-метилимидазола [20].

(MeOTr)ТрТ(Ас) (VI). 0,5 ммоль (MeOTr)ТрТ ацетиловали 2,5 ммоль уксусного ангидрида в присутствии 5 ммоль MeIm в абсолютном пиридине в течение 2 ч при комнатной температуре. Полученный продукт (VI) хроматографировали на колонке (2,5×25 см) с силикагелем Silasorb 600 (LC). Элюцию проводили в градиенте концентрации этанола (5→15%) в хлороформе (объем градиента 1000 мл). Скорость элюции 10 мл/мин. Получено 0,17 ммоль изомера (VIa) (R_f 0,32 (А), ³¹P-ЯМР, δ 31,7 м.д. в C₆H₅N), 0,15 ммоль изомера (VIб) (R_f 0,27 (А), ³¹P-ЯМР, δ 31,2 м.д. в C₆H₅N) и 0,8 ммоль смеси изомеров (VIa) и (VIб).

[(MeO)₂Tr]ТрТ(Ас) (VIIa), [(MeO)₂Tr]ТрТ(Ас) (VIIб). Из 50 мкмоль производного (VIa) после удаления 5'-О-монометокситритильной защиты [21] и обработки 250 мкмоль (MeO)₂TrCl [21] было получено 40 мкмоль диметокситритилового эфира (VIIa) (R_f 0,56 (Б)). Аналогично из 50 мкмоль эфира (VIб) получено 36 мкмоль (VIIб) (R_f 0,52 (Б)).

[(MeO)₂Tr]ТрТр(SCH₃, CNEt) (I). К 2 ммоль метилфосфоната (II) и 2,5 ммоль производного (III) добавляли 6 ммоль TPS, 12 ммоль MeIm и 20 мл абсолютного пиридина. Через 1 ч к смеси добавляли 10 мл воды, упаривали, растворяли в хлороформе и 3 раза промывали водой. Высушенный хлороформный слой хроматографировали на колонке (5,5×18 см) с силикагелем. Элюцию проводили в градиенте концентрации этанола (0→20%) в хлороформе, содержащем 0,1% пиридина (объем градиента 2 л). Фракции, содержащие продукт (здесь диастереомеров), объединяли, упаривали, растворяли в 30 мл хлороформа и осаждали добавлением в гексан (300 мл). Получено 1,84 ммоль продукта. R_m 0,82; 0,72 (В), ³¹P-ЯМР, δ 32,61; 33,13; 30,60 и 30,40 м.д.

[(MeO)₂Tr]ТрТр(SCH₃, CNEt) (Ia) и [(MeO)₂Tr]ТрТр(SCH₃, CNEt) (Iб). А. 0,5 ммоль (I) (смесь диастереомеров) хроматографировали на колонке (2,5×25 см) с силикагелем Silasorb 600. Элюцию проводили в градиенте концентрации этанола (5→15%) в хлороформе (объем градиента 500 мл). Скорость элюции 5 мл/мин. Получено 0,25 ммоль (Ia) (R_m 0,82 (В)), 0,20 ммоль (Iб) (R_m 0,72 (В)) и 0,025 ммоль смеси указанных диастереомеров. Другие характеристики полученных соединений приведены в табл. 1 и 2.

Б. К 20 мкмоль [(MeO)₂Tr]ТрТ (VIIa), полученного из [(MeO)₂Tr]ТрТ(Ас) (VIIa) удалением 3'-О-ацетильной защиты [22], 200 мкмоль 1-гидроксibenзтриазола и 200 мкл абсолютного пиридина добавляли при охлаждении 100 мкмоль дихлор-S-метилтиофосфата. Через 20 мин добав-

ляли 200 мкмоль 2-цианэтанола, выдерживали 20 мин, упаривали, растворяли в хлороформе и хроматографировали в градиенте концентрации этанола (0→25%) в хлороформе, содержащем 0,1% пиридина (объем градиента 300 мл), на колонке с силикагелем (2,5×15 см). Получено 16 мкмоль (Ia) (R_M 0,82 (B)). Аналогично, исходя из 20 мкмоль (VIb), было получено 18 мкмоль изомера (Iб) (R_M 0,72 (B)).

$[(MeO)_2Tr]TpTp(CNEt)$ (IV) получен как в работе [11] конденсацией мономера (II) (0,50 ммоль) и $Tr(CNEt)$ (0,45 ммоль). Получено 0,28 ммоль производного (IV). R_M 0,57; 0,48 (B), ^{31}P -ЯМР: δ 33,01; 32,75; 32,21 м.д. (соотношение интенсивностей сигналов 2 : 1 : 1 соответственно).

$[(MeO)_2Tr]Tp(SCH_3)Tp(SCH_3, CNEt)$ (V) получен как в работе [14]. R_M 0,86 (B), ^{31}P -ЯМР, δ 30,60; 30,32 и 30,02 м.д. (соотношение интенсивностей сигналов 1 : 2 : 1 соответственно).

Авторы благодарят А. В. Лебедева и Т. В. Мальцеву за интерес к работе, полезные советы и запись ЯМР-спектров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Зарытова В. Ф., Кутявин И. В., Подыминогин М. А., Сильников В. Н., Шишкин Г. В. // Биоорган. химия. 1987. Т. 13. № 9. С. 1212–1220.
2. Бросалина Е. Б., Власов В. В., Кутявин И. В., Мамаев С. В., Плетнев А. Г., Подыминогин М. А. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 2. С. 240–247.
3. Абрамова Т. В., Кнорре Д. Г., Лебедев А. В., Пичко Н. П., Федорова О. С. // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. № 12. С. 1642–1649.
4. Dreyer G. B., Dervan P. B. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1985. V. 82. № 4. P. 963–972.
5. Chu B. C. F., Orgel L. E. // Proc. Nat. Acad. Sci. USA. 1985. V. 82. № 4. P. 963–967.
6. Blake K. R., Murakami A., Spitz S. A., Reddy M. P., Ts'O P. O. P., Miller P. S. // Biochemistry. 1985. V. 24. № 22. P. 6139–6345.
7. Marcus-Sekure C. J., Woerner A. M., Shinozuka K., Zon G. V., Quinon G. V., Jr. // Nucl. Acids Res. 1987. V. 15. № 14. P. 5749–5763.
8. Miller P. S., Agris C. H., Aurelian L., Blake K. R., Murakami A., Reddy M. P., Spitz S. A., Ts'O P. O. P. // Biochemie. 1985. V. 67. № 7/8. P. 769–776.
9. Miller P. S., McParland K. B., Jayaraman K., Ts'O P. O. P. // Biochemistry. 1981. V. 20. № 7. P. 1874–1880.
10. Miller P. S., Briterman L. T., Ts'O P. O. P. // Biochemistry. 1977. V. 16. № 9. P. 1988–1996.
11. Miller P. S., Anman N. D., McParland N. D., Pulford S. M. // Biochemistry. 1982. V. 21. № 10. P. 2507–2512.
12. Miller P. S., Dreon N., Pulford S. M., McParland K. B. // J. Biol. Chem. 1980. V. 255. № 20. P. 9659–9665.
13. Амирханов Н. В., Кумарев В. П., Ривкин М. И., Рыбаков В. Н. // Биоорган. химия. 1982. Т. 8. № 1. С. 126–129.
14. Кумарев В. П., Баранова Л. В., Богачев В. С., Лебедев А. В., Обухова Л. В. // Биоорган. химия. 1986. Т. 12. № 10. С. 1348–1358.
15. Зарытова В. Ф., Иванова Е. М., Романенко В. П. // Биоорган. химия. 1983. Т. 9. № 4. С. 516–521.
16. Ефимов В. А., Бурякова А. А., Ревердатто С. В., Чажмахчева О. Г. // Биоорган. химия. 1983. Т. 9. № 10. С. 1367–1381.
17. Noble S. A., Fisher E. F., Caruthers M. H. // Nucl. Acids Res. 1984. V. 12. № 7. P. 3387–3404.
18. Katti S. B., Agarwal K. // Tetrahedron Lett. 1986. V. 27. № 44. P. 5327–5330.
19. Lesnkowski Z. J., Walkanin P. J., Stec W. J. // Tetrahedron Lett. 1987. V. 28. № 45. P. 5535–5538.
20. Miller P. S., Agris C. H., Blandin M., Murakami A., Reddy M. P., Spitz S. A., Ts'O P. O. P. // Nucl. Acids Res. 1983. V. 11. № 15. P. 5189–5204.
21. Schaller H., Weimann G., Lerch B., Khorana H. G. // J. Amer. Chem. Soc. 1963. V. 85. № 23. P. 3821–3827.
22. Miller P. S., Yano F., Carroll C., Jayaraman K., Ts'O P. O. P. // Biochemistry. 1979. V. 18. № 23. P. 5134–5143.

Поступила в редакцию
14.IV.1988.

После доработки
18.VII.1988.

REACTIVE OLIGONUCLEOTIDE BEARING METHYLPHOSPHONATE
GROUPS. I. SYNTHESIS AND SEPARATION
OF 5'-O-DIMETHOXYTRITYL [THYMIDYL-(3'-METHYLPHOSPHONATE →
5')-THYMIDINE]-3'-O-β-CYANOETHYL-S-METHYLTHIOPHOSPHATE

AMIRKHANOV N. V., ZARYTOVA V. F.

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

By reaction of $(\text{MeO})_2\text{TrTp}$ ($p = -\text{O}-\text{P}(\text{O})(\text{CH}_3)-\text{O}-$) and $\text{Tp}(\text{SCH}_3, \text{CNEt})$ in the presence of the triisopropylbenzenesulphonyl chloride and N-methylimidazole, dinucleotide $(\text{MeO})_2\text{TrTpTp}(\text{SCH}_3, \text{CNEt})$ containing chiral phosphorus atom was prepared (yield 92%) and easily separated into two diastereoisomers characterized by ^{31}P NMR, ^1H NMR and UV spectra. Their absolute configuration was elucidated by correlation with known R_p - and S_p -diastereoisomers of $(\text{MeO})\text{TrTpT}(\text{Ac})$.