



УДК 547.857.7'455.057 : 577.113.6

© 1990 г.

СИНТЕЗ 6-О-АЛКИЛГУАНОЗИНОВЫХ СИНТОНОВ
ДЕЗОКСИРИБО- И РИБОРИДА ДЛЯ ФОСФОТРИЭФИРНОГО
СИНТЕЗА ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ

*Тактакишвили М. О., Табджун А., Ярцева И. В.**

Тбилисский государственный университет;

**Онкологический научный центр Академии медицинских наук СССР, Москва*

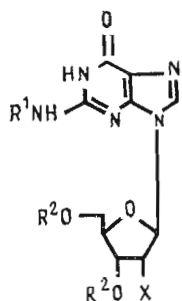
Реакцией дезоксирибо- и рибогуанозина с фенилхлортиоформатом получен ряд 6-О-алкилированных производных дезоксирибо- и рибогуанозина, играющих роль мутагенного, канцерогенного фактора в нуклеиновых кислотах. N-Изобутирированием, 5'-диметокситриэтированием и 3'-фосфорилированием 6-О-алкилированных дезоксигуанозин-3'-фосфаты (G-мономеры в триэфирном олигонуклеотидном синтезе).

Синтез модифицированных олигонуклеотидов за последние годы охватывает все более широкий спектр соединений. В целом характер модификаций синтетических аналогов ДНК и РНК сводится к трем основным направлениям: синтез олигонуклеотидов с разветвленной цепью [1—5], получение олигонуклеотидов с модифицированной межнуклеотидной связью [6, 7] и, наконец, замена природных нуклеотидов в олигонуклеотидах и функционально значимых фрагментах ДНК и РНК на их аналоги — нуклеотиды, модифицированные по гетероциклическому основанию либо сахарному остатку [8—19], которая вызывает нарушение вторичной структуры ДНК, влияет на ее поведение в качестве субстрата экзонуклеаз, эндонуклеаз (рестриктаз) и других ферментов нуклеинового обмена [8—13].

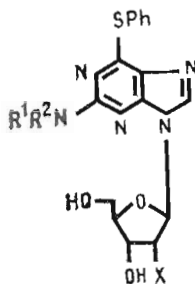
Часто мишенью модификаций в ДНК и РНК оказывается лабильное гуаниновое основание, высокая реакционная способность которого требует, как известно, помимо традиционного N-ацилирования экзоаминогруппы также блокирования 6-О-положения. В олигонуклеотидном синтезе для этой цели используются различные ацильные [17—26] и алкильные [24, 27—35] защитные группы.

Распространенными способами 6-О-алкилирования гуанина в составе нуклеозида являются 6-О-фосфорилирование арилхлорфосфатом [24, 27—34] или же 6-О-сульфонилирование арилсульфохлоридом [11, 32, 34, 35] с последующим алкилированием действием третичного амина и затем соответствующего спирта; широко применяется 6-О-алкилирование реакцией Митсунобу — Джонса действием спирта, диэтилазодикарбоксилата и трифенилфосфина [36—41]; и наконец, 6-О-алкилирование по Михаэлю осуществляется реакцией нуклеофильного присоединения к соответствующему замещенному олефину 6-ОН-функции гуанина, енолизованной в присутствии четвертичного аммониевого основания [42].

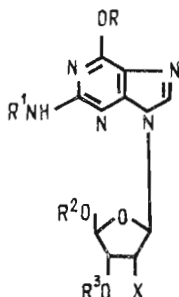
С использованием этих реакций по 6-О-положению гуанина могут быть введены алкилы и арилы: метил, этил, пропил, бутил [26, 43, 44], аллил [44], пропаргил [44], тиофенил [23, 26], нитрофенил [34], бензил [36], β-замещенные этильные группы. Эти группы, которые могут быть удалены действием сильного основания на последнем этапе синтеза, предотвращают модификацию гуанинового звена в ходе наращивания цепи. В настоящей работе, однако, мы стремились ввести в остаток гуанина такую 6-О-защитную группу, которая не только выполняла бы чисто защитную функцию, но и сохранялась после удаления из олигонуклеотида всех осталь-



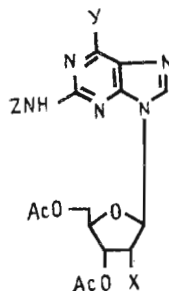
(I),(dI): $R^1 = H$, $R^2 = Me_3Si$
 (II),(dII): $R^1 = PhSCO$, $R^2 = H$



(III),(dIII): $R^1 = R^2 = PhSCO$
 (IV),(dIV): $R^1 = H$, $R^2 = CH_3OCO$
 (V),(dV): $R^1 = R^2 = H$



(VI),(dVI): $R^1 = R^2 = R^3 = H$
 (VII),(dVII): $R^1 = Me_2CHCO$, $R^2 = R^3 = H$
 (dVIII): $R^1 = Me_2CHCO$, $R^2 = DMTr$, $R^3 = H$
 (dIX): $R^1 = Me_2CHCO$, $R^2 = DMTr$, $R^3 = P(O)(Oce)$.
 ·Opc
 (dX): $R^1 = Me_2CHCO$, $R^2 = H$, $R^3 = P(O)(Oce)(Opc)$



(XI), (dXI)
 A: $Y = SPh$, $Z = H$
 B: $Y = SPh$, $Z = MeOCO$
 B: $Y = OR$, $Z = Me_2CHCO$

Ac = CH_3CO , DMTr = диметокситритил; Oце = —цианэтилокси; Opc = *n*-хлорфенилокси; R = CH_3 (а), C_4H_9 (б), C_7H_{15} (в), $C_{14}H_{29}$ (г), $C_{16}H_{33}$ (д); X = H; (dI) — (dXI), X = OH: (I)—(VII)

ных блокирующих групп. Действительно, если под защитой 6-О-положения подразумевается его алкилирование, причем не легко гидролизующимися в щелочной среде по механизму β -элиминирования *n*-нитрофенил-, триметилсилил-, β -цианэтильной и другими β -замещенными этильными группами [32—37], а незамещенными алкильными группами, само собой разумеется, что такая защита может скорее рассматриваться как модификация основания, так как условия полного деблокирования после завершения олигонуклеотидного синтеза могут оказаться недостаточно жесткими для удаления введенной в 6-О-положение гуанина устойчивой к гидролизу алкильной группы. Таким образом, в составе синтезируемого фрагмента ДНК гуанин будет 6-О-алкилирован. Такого рода модификация интересна тем, что алкилированный гуанин в составе нуклеиновых кислот образует комплементарную пару с тиминном или урацилом вместо цитозина и является мутагенным и канцерогенным фактором [45—49].

Введение в 6-О-положение алкильных заместителей с различной длиной углеводородной цепи позволяет варьировать липофильность замещенного гуанинового остатка в составе синтезированных фрагментов ДНК после снятия всех защит, что, несомненно, будет влиять на свойства ДНК как полиэлектролита; стерические затруднения будут препятствовать образованию комплементарной пары оснований в дуплексе и соответственно искажать форму двойной спирали ДНК.

Для введения C_1 — C_{16} -алкильных заместителей в 6-О-положение гуанина в гуанозине и его дезоксианалоге мы воспользовались значительно более предпочтительной (в отношении доступности реагентов), чем рассмотренные выше методы [11, 24, 27—44], реакцией ацилирования гуанозина фенолхлортиокарбонилформатом с последующим гидролитическим отщеплением 2-*N*-фенилтиокарбонильной группы и замещением 6-фенилтио-

Физико-химические характеристики синтезированных соединений *

Номер соединения	Т. пл., °С	R_f	Выход, %
II	270	0,30	70
dIII	235–240	0,38	70
III	115–115,5	0,42	80
dIII	85–86	0,50	80
IV	99–100	0,36	70
dIV	Масло	0,42	70
V	93–95	0,30	50
dV	115–121	0,36	50
VIa	Масло	0,11	30
VIб	»	0,20	30
VIв	60–64	0,22	30
VIг	Масло	0,26	30
VIд	109–112	0,26	30
dVIб	45–55	0,26	30
dVIд	42–55	0,29	35
VIIa	91–96	0,33	15
VIIб	Масло	0,36	45
VIIв	120–125	0,40	40
VIIг	130–131	0,47	35
VIIд	135–136	0,50	37
dVIIб	76–77	0,40	45
dVIIд	75–77	0,42	45
dVIIIб	Масло	0,56	95
dVIIIд	60–68	0,72	85
dIXб	42–47	0,69	75
dIXд	53–58	0,72	76
dXб	52–56	0,49	80
dXd	Масло	0,56	80

* Для всех приведенных в таблице веществ представлены удовлетворительные данные элементного анализа.

группы на алкильную путем кипячения образующегося 6-фенилтиогуанозина с алкоholesом соответствующего спирта [50]. Для защиты гидроксильных сахаров мы воспользовались не диметил-*трет*-бутилсилильной группой, требующей для своего удаления дополнительной обработки тетрабутиламмонийфторидом, а лабильной триметилсилильной группой, снятие которой осуществляется в очень мягких условиях (гидролиз разбавленным аммиаком) непосредственно вслед за реакциями изобутирирования [51] и фенилтиокарбонилирования. Тем самым отпадает необходимость хроматографического выделения промежуточных силильных производных.

Для получения олигонуклеотидов с заданной последовательностью оснований, содержащих 6-О-алкилированные гуаниновые остатки, требовались полностью защищенные 6-О-алкилгуанозин-3'-фосфаты. С этой целью 6-О-алкилгуанозины *N*-изобутирилировали изомасляным ангидридом [51], 5'-тритилировали *n,n'*-диметокситритилхлоридом [52] и 3'-фосфорилировали монофункциональным реагентом *n*-хлорфенил-β-цианэтилхлорфосфатом [53, 54]. Полученный 5'-О-(*n,n'*-диметокситритил)-6-О-алкил-2-*N*-изобутирилдезоксигуанозин-3'-(*n*-хлорфенил-β-цианэтил)фосфат (dIX) (универсальный мономерный блок) предполагается использовать в олигонуклеотидном триэфирном синтезе как в качестве гидроксильного компонента (после 5'-деблокирования [55]), так и в качестве фосфатного компонента (после 3'-деблокирования [52]).

Индивидуальные соединения (I—XI) выделяли хроматографией на силикагеле (см. табл. 1); их строение доказано анализом ¹H-ЯМР- и масс-спектров (см. табл. 2—4).

Для рибозидов в области 6 м. д. (табл. 2) имеются сигналы в виде дублета от аномерного протона и другие сигналы рибозы в области 4,85—

Данные спектров ¹H-ЯМР синтезированных

Номер соединения	H-Ph, 5H		H-8 (с)	H-1	H-2'б	H-2'а	H-3'	H-4
	3,5	2,6						
II	7,6-7,4		8,15	5,98д	—	4,60	—	4,25
dII	7,6-7,4		8,15	6,40т	2,40м	2,84м	4,85-4,25	
III	8,0-7,3м		(19H)	6,04д	—	4,70	—	4,25
dIII	8,0-7,25м		(19H)	6,42т	2,42м	2,85дд	4,70-4,25	
IV	7,40-7,10		7,74	6,00д	—	4,65	—	4,20
dIV	7,40-7,15		7,73	6,40т	2,41м	2,84дк кв	4,80-4,30	
V	7,4-7,15		7,75	5,99д	—	4,70	—	4,20
dV	7,4-7,15		7,75	6,40 т	2,38м	2,85м	4,80-4,10	
VIa	—		8,06	6,00д	—	4,65	—	4,25
VIб	—		8,08	6,00д	—	4,75	—	4,25
VIв	—		8,09	6,00д	—	4,75	—	4,25
VIг	—		8,09	6,00д	—	4,75	—	4,20
VIд	—		8,08	6,00д	—	4,70	—	4,20
dVIб	—		8,06	6,40д	2,40м	2,90дд	4,85-4,10	
dVIд	—		8,10	6,39д	2,40дд	2,89м	4,80-4,15	
VIIa	—		8,02	5,95д	—	4,65дд	4,39т	4,24к
VIIб	—		8,22	5,99д	—	4,55т	4,42дд	4,22к
VIIв	—		8,23	5,99д	—	4,60т	4,43т	4,24к
VIIг	—		8,23	6,02д	—	4,62т	4,43т	4,22м
VIIд	—		8,24	5,99д	—	4,60т	4,44т	4,23к
dVIIб	—		8,05	6,40т	2,44дк	2,87дк кв	4,84дт	4,16к
dVIIд	—		8,11	6,41т	2,44дк	2,84дк кв	4,81м дт	4,16к
dVIIб	7,30-7,15м	6,8м	8,06	6,43т	2,45дк	2,89кв	4,84дт	4,20к
dVIIд	7,30-7,15м	6,8м	8,11	6,43т	2,44дк	2,84м	4,81м	4,15дд
dIXб	7,30-7,15м	6,8м	8,06	6,30т	2,65дк	3,25кв	5,55дк	4,20к
dIXд	7,30-7,15м	6,8м	8,13	6,32т	2,63т	3,21м	5,50м	4,15,дд
dXб	7,35д	7,21дд	7,93	6,30т	2,65дк	3,22дк кв	5,54дк	4,35дд
dXd	7,35д	7,20дд	7,93	6,32т	2,60дк	3,22дк	5,55дк	4,35дд

* Для соединений (VII) — (X) имеется мультиплет 2,71—3,04 м.д. протона (CH₂)₂CH.

3,75 м. д. Для соединений дезоксирида сигналы аномерного протона в виде триплета расположены в области 6,40 м. д., а сигналы в области 3,25—2,40 м. д. относятся к протонам H-2'. Сигналы протона H-8 гетероцикла и ароматических протонов защитных групп расположены в области 8,25—7,15 м. д. В спектрах соединений (VI) — (X) имеются сигналы в областях 4,5—4,0 и 1,90—0,90 м. д., соответствующие б-О-алкильным заместителям.

Помимо H, H спин-спинового расщепления сигналы H-2' и протонов β-цианэтильной и *n*-хлорфенильной групп расщепляются также в результате взаимодействия с ³¹P фосфата с КССВ ³J(P, H) 2—8 Гц, а H-3' — с константой 6 Гц (см. табл. 3). Режим квадруплетного фазового дейтерокенирования и применение двойного резонанса позволяют получить спектры ¹H-ЯМР высокого разрешения и однозначно отнести сигналы протонов во всех областях спектра.

В масс-спектрах, соединений (XIa), (XIб), (dXIa), (dXIб), (XIвa—д), (dXIбб) и (dXIвд) присутствуют пики молекулярных ионов. Диссоциация молекулярных ионов (см. табл. 4) дает в общем аналогичные масс-

соединений (химические сдвиги, м. д., δ) *

H-5'a (дд)	H-5'b (дд)	OCH ₃ , OCH ₂	OCH ₂ CH ₂	OCH ₂ CH ₂ CH ₂	CH ₃
3,88		—	—	—	—
3,90	3,76	—	—	—	—
3,94	3,80	—	—	—	—
3,91	3,84	—	—	—	—
3,90	3,81	—	—	—	—
3,90		3,75	—	—	—
3,90		3,70	—	—	—
3,90	3,77	—	—	—	—
3,90	3,80	—	—	—	—
3,88	3,76	3,98с	—	—	—
3,90	3,78	4,55т	1,85кв	1,46м	0,88т
3,89	3,76	4,55т	1,84кв	1,46кв	0,90т
3,88	3,77	4,53т	1,85кв	1,49кв	0,90т
3,88	3,77	4,55т	1,85кв	1,49кв	0,91т
3,92	3,80	4,54т	1,79кв	1,46м	0,90т
3,91	3,80	4,54т	1,79кв	1,42кв	0,91т
3,85	3,77	3,90с	—	—	1,35д 6Н
3,87	3,78	4,52т	1,87тт	1,48м	0,90т
					1,27д 6Н
3,88	3,77	4,54т	1,87кв	1,50кв	0,89т
					1,26д 6Н
3,90	3,77	4,54т	1,87кв	1,47м	0,93т
					1,26д 6Н
3,89	3,77	4,54т	1,87кв	1,49м	0,97т
					1,25д 6Н
3,92	3,82	4,52т	1,83м	1,49м	0,95т
					1,26д 6Н
3,90	3,81	4,52т	1,84кв	1,41м	0,88т
					1,26д 6Н
	3,35д	4,54т	1,86м	1,53м	0,95т
		3,77с			1,26д 6Н
	3,35д	4,53т	1,85кв	1,42м	0,88т
		3,77с			1,26д 6Н
3,30		8,80	1,86м	1,53м	0,97т
		4,52т	2,80м		1,25д 6Н
3,30		3,80	1,83кв	1,43м	0,91т
		4,52т	2,78к		1,25д 6Н
3,95	3,81	4,55т	1,85кв	1,51дк	0,97т
		4,04дт	2,80к		1,26д 6Н
4,00	3,81	4,55т	1,85кв	1,40м	0,97т
		4,04дт	2,80к		1,26д 6Н

фрагментационные картины. Фрагменты с m/z 259 в соединениях риборяда и с m/z 201 в соединениях дезоксириада отвечают ионам углеводного остатка при распаде молекулы по гликозидной связи. В спектрах присутствуют пики, соответствующие m/z , гетероциклических оснований: V^+ , $(V + H)^+$, $(V + 2H)^+$ и $(V + 30)^+$. Присутствующие в спектре интенсивные пики с m/z 157 и 139 — результат фрагментации триацетилрибозы с отщеплением молекул уксусной кислоты, кетена и воды.

Экспериментальная часть

Спектры 1H -ЯМР снимали на спектрометрах H-360 (Bruker, ФРГ; 360 МГц) и Tesla 100 (Tesla, Чехословакия, 100 МГц) в $CDCl_3$ относительно Me_4Si (внутренний стандарт) в режиме квадруплетного фазового дейтерокенирования. Время используемой памяти 32 к. точек, время сбора данных на одном слоне 5 с, ширина импульса 5 мкс, релаксационная задержка 0 с. Сигналы отнесены с помощью двойного резонанса.

Масс-спектры снимали на приборе 10-10В (Ribermag, Франция) с раз-

Величины $R_{ССВ}$, Гц

Номер соединения	1',2'a	1',2'б	2'a,2'б	2'a,3'	2'б,3'	3',4'	4',5'a	4',5'б	5'a,5'б	3',Р	2'a,Р	2,Р
VIIa	6,5	—	—	3,5	—	3,5	3,3	3,2	12,0	—	—	—
VIIб	5,3	—	—	5,1	—	3,0	3,1	3,2	12,5	—	—	—
VIIв	5,1	—	—	5,1	—	3,7	3,2	3,2	12,3	—	—	—
VIIг	5,1	—	—	5,1	—	4,0	3,4	3,1	12,4	—	—	—
VIIд	5,1	—	—	5,1	—	3,8	3,2	3,2	12,4	—	—	—
dVIIб	7,4	6,3	13,6	6,6	3,5	3,1	3,1	3,1	12,5	—	—	—
dVIIд	7,3	6,2	13,3	6,2	2,3	3,0	3,1	3,1	12,5	—	—	—
dVIIIб	6,3	6,3	13,0	5,0	3,0	3,9	2,8	3,2	10,4	—	—	—
dVIIIд	7,0	6,0	13,5	6,2	3,3	3,1	3,2	3,2	10,5	—	—	—
dIXб	7,5	6,3	13,5	5,5	3,0	3,1	3,1	3,1	12,6	6,0	2,0	8,0
dIXд	7,5	6,2	13,5	5,9	3,0	2,3	3,5	3,5	10,4	6,0	2,0	8,0
dXб	8,6	5,7	14,1	5,7	1,8	1,1	3,4	3,0	12,6	6,2	2,0	8,0
dXd	8,8	5,7	14,0	5,5	2,0	1,3	3,5	3,5	12,6	6,2	2,0	8,0

решением 1000, чувствительность 5 нг. Спектры сняты прямым вводом веществ в источник ионизации с программируемым нагревом 0—250° С и энергией ионизирующих электронов 70 эВ.

Для хроматографии на колонках использовали силикагель марки Silicagel L-40-100 (Chemapol, Чехословакия), для ТСХ — Silufol UV₂₅₄ (Chemapol, Чехословакия). Элюировали с колонки градиентом концентрации метанола в хлороформе, ТСХ-пластинки проявляли в системе хлороформ — метанол, 9 : 1.

2-*N*-Фенилтиокарбонилгуанозин (II) получен реакцией 315 мг (1 ммоль) гуанозина (дигидрата) с 1 мл (6 ммоль) триметилхлорсилана и затем с 0,12 мл (173 мг, 1 ммоль) фенилхлортиоформиата в 5 мл пиридина в течение 2 ч при 20° С с последующим десилилированием (1 мл конц. NH₃, 0,5 ч при 20° С) и хроматографией на 30 мл силикагеля (элюция 10% раствором метанола в хлороформе). Выход 292 мг (70%).

2-*N*-Фенилтиокарбонил-2'-дезоксигуанозин (dII) получен аналогичным путем из 267 мг (1 ммоль) dG. Выход 285 мг (70%).

9-(β-*D*-Рибофуранозил)-6-фенилтио-2-(бисфенилтиокарбонил)аминопурин (III). 15,75 г (50 ммоль) дигидрата гуанозина обезводили упариванием с безводным пиридином, суспендировали в 300 мл пиридина, при охлаждении прилили 50 мл (390 ммоль) Me₃SiCl и взбалтывали 3—4 ч. Раствор декантировали, осадок быстро промыли 50 мл безводного пиридина. К объединенному раствору при охлаждении и перемешивании прибавили по каплям 63,7 мл (100 г, 580 ммоль) PhSCl. Перемешивали в темноте 10 ч, охладили и добавили 20 мл воды, затем 50 мл (750 ммоль) 29% водн. NH₃ (d 0,88 г/мл). Через 30—40 мин реакционную смесь упарили. Остаток растворили в 0,5 л CHCl₃, промыли 5% раствором NaHCO₃, высушили безводным Na₂SO₄ и хроматографировали на 750 мл силикагеля, элюируя 3% CH₃OH и CHCl₃. Выход соединения (III) 26 г (80%).

9-(2'-Дезокси-β-*D*-рибофуранозил)-6-фенилтио-2-(бисфенилтиокарбонил)аминопурин (dIII) получили аналогичным образом из dG. Выход 80%.

9-(β-*D*-Рибофуранозил)-6-фенилтио-2-аминопурин (V). К охлажденному раствору 10 г (15,4 ммоль) соединения (III) в смеси 300 мл тетрагидрофурана и 100 мл воды добавили 80 мл 2 н. NaOH (160 ммоль) и перемешивали 5 ч при 20° С. Раствор нейтрализовали добавлением 10 мл (160 ммоль) CH₃COOH и упарили досуха. Остаток хроматографировали на колонке с 0,5 л силикагеля, элюируя 8% CH₃OH/CHCl₃. Выход 3 г (50%).

9-(2'-Дезокси-β-*D*-рибофуранозил)-6-фенилтио-2-аминопурин (dV) получили аналогичным путем с выходом 50%.

Масс-спектр, m/z (относительная интенсивность, %) *

Номер соединения	M , $M+H$ $M+2H$	$M-Ac$, $M-Ac$, $+H$ $M-Ac$, $+2H$	$M-Ac$, $-Me$	$M-IbNH_2$	$M-R$	$M-R-IbNH_2$	$B+30$	B , $B+H$ $B+2H$	S , $S+H$	Другие сигналы
	XIA	501 (4) 502 (2) 503 (1)	-	-	-	-	-	272 (4)	242 (4) 243 (6) 244 (3)	
dXIA	443 (5) 444 (3) 445 (1)	-	-	-	-	-	272 (4)	242 (6) 243 (7) 244 (2)	201 (4) 202 (1)	S - Me 244 (4)
XIB	558 (1) 559 (3) 560 (1)	517 (3) 518 (2) 457 (4)	-	-	-	-	-	300 (4) 301 (6) 302 (7)	259 (23) 260 (5)	B - MeOCO 241 (2), B - MeOCO - NH ₂ 242 (3) 243 (4)
dXIB	500 (1) 501 (4) 502 (2)	457 (4) 458 (2)	-	-	-	-	-	300 (3) 301 (10) 302 (10)	201 (18) 202 (3)	B - Me 269 (4), B - MeOCO 270 (8), B - MeOCONH 217 (4)
XIBa	493 (3) 494 (5) 495 (2)	450 (3)	435 (2)	408 (5)	478 (15)	-	274 (2)	234 (2) 235 (6)	259 (2) 260 (6)	-
XIBb	535 (10) 536 (12) 537 (15)	491 (3)	476 (8)	450 (5)	478 (15)	393	306 (4)	276 (4) 277 (5) 318 (4)	259 (4) 260 (4) 259 (4)	-
XIBv	578 (10) 579 (10) 580 (10)	533 (3)	518 (7)	492 (3)	479 (9)	-	348 (8)	416 (2) 417 (50) 444 (10)	459 (3) 260 (50) 259 (7)	M - IbNH ₂ - Me 477 M - IbNH ₂ - R 393 M - OR - IbNH ₂ - 2Me = 347 (25)
XIBr	677 (30) 703 (30) 704 (4)	631 (2)	617 (7)	590 (2)	479 (30)	393 (2)	446 (2)	444 (40) 445 (48)	259 (7) 260 (19)	-
XIBд	705 (4) 477 (55) 478 (12)	433 (4)	393 (19)	-	421 (9)	336 (2)	-	276 (7) 277 (12) 444 (4)	201 (11) 202 (23) 201 (3)	M - IbNH ₂ - R - Ac 293 M - IbNH ₂ - R - Me 321 M - IbNH ₂ - R - Ac 292
dXIBb	645 (6) 646 (6)	604 (2)	-	560 (1)	420 (44)	335 (3)	474 (4)	445 (8)	202 (3)	-

* Соединения рибрида использовались в виде 2'-ацетатов.

9-(β -D-Рибофуранозил)-6-фенилтио-2-метоксикарбониламинопурин (IV). Раствор 0,5 г (0,77 ммоль) соединения (III) в смеси 15 мл тетрагидрофурана, 12 мл метанола и 3 мл воды обработали 3 мл 2 н. NaOH (7 ммоль) 30 мин при 0° С, нейтрализовали CH_3COOH , упарили, остаток растворили в хлороформе. Промыли водой, высушили, упарили и хроматографировали на 30 мл силикагеля, элюируя 5% CH_3OH в CHCl_3 . Выход 0,3 г (70%).

9-(2'-Дезокси- β -D-рибофуранозил)-6-фенилтио-2-метилоксикарбониламинопурин (dIV) получили аналогичным путем из (dIII). Выход 70%.

6-О-Алкильные производные G и dG (VIa—d) и (dVIб, d). 1,44 ммоль сульфида (V) или (dV) перемешивали 24 ч при 20° С в 60 мл абс. спирта (метилового для (а), *n*-бутилового для (б), *n*-гептилового для (в)), содержащего 8,6 ммоль соответствующего алкоголята, полученного добавлением 200 мг металлического натрия. В случае (г) и (д) использовали раствор 8,6 ммоль соответствующего алкоголята в 50 мл безводного тетрагидрофурана. После завершения реакции (контроль ТСХ) смесь нейтрализовали 0,6 мл CH_3COOH , упаривали. Остаток растворяли в хлороформе, промывали водой, высушивали и упаривали, а затем 6-О-алкильные производные (а—д) хроматографировали на силикагеле (100 мл), элюируя 5—15% CH_3OH в CHCl_3 .

(VIa—д) и (dVIб, д) изобутирилировали взаимодействием с Me_3SiCl и затем с изомасляным ангидридом в пиридине [51]. Ацетилирование углеводного остатка для получения масс-спектров соединений (IVa—д) и (dIVб, д) осуществляли действием на (VIIa—д) и (dVIIб, д) уксусного ангидрида в пиридине. Соединения (dVIIб, д) диметокситритилировали действием $(\text{MeO})_2\text{TrCl}$ в пиридине [52]. Тритилсодержащие соединения фосфорилировали действием *n*-хлорфенил- β -цианэтилхлорфосфата и метилимидазола в диоксане [53, 54]. Детритилирование синтонов (dIXб, д) осуществляли 2% раствором трифторуксусной или дихлоруксусной кислот в безводном дихлорэтаноле [55].

Авторы благодарны Ю. А. Берлину (ИБХ им. Шемякина АН СССР) за помощь в работе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Sekine M., Heikkila J., Hata T. // Tetrahedron Lett. 1987. V. 28. № 46. P. 5691—5694.
2. Fourrey J., Varerne J., Fontaine C., Guittet E., Jong N. // Tetrahedron Lett. 1987. V. 28. № 16. P. 1769—1772.
3. Vial J. M., Remaud G., Balgobin N., Chattopadhyaya J. // Tetrahedron. 1987. V. 43. № 26. P. 3997—4004.
4. Remaud G., Vial J. M., Nyilas M., Balgobin N., Chattopadhyaya J. // Tetrahedron. 1987. V. 43. № 5. P. 947—958.
5. Zhou X. X., Nyilas A., Remaud G., Chattopadhyaya J. // Tetrahedron. 1988. V. 44. № 2. P. 571—589.
6. Koziolkiewicz N., Urnanski B., Stec W. J. // Chem. scr. 1986. V. 26. P. 251—260.
7. Coull J. M., Carlson D. V., Weith H. L. // Tetrahedron Lett. 1987. V. 28. № 7. P. 745—748.
8. Nucleoside Analogues, Chemistry, Biology and Molecular Applications // Eds Walker R. T., De Clercq E., Eckstein F. N. Y.: Plenum Press, 1979.
9. Chemistry and Biology of Nucleosides and Nucleotides / Eds Harmon R. E., Robins R. K., Townsend L. B., N. Y.: Acad. Press, 1987.
10. Hall R. H. The Modified Nucleosides in Nucleic Acids. N. Y.: Columbia University Press, 1987.
11. Agris P. F. The Modified Nucleosides of Transfer RNA. N. Y.: A. R. Liss, 1980.
12. Seela F., Driller H., Herdering W., De Clercq E. // Nucleosides and Nucleotides. 1988. V. 7. № 3. P. 347—363.
13. Goddard A. J., Marques V. E. // Tetrahedron Lett. 1988. V. 29. № 18. P. 1767—1770.
14. Gao X., Jones R. A. // J. Amer. Chem. Soc. 1987. V. 109. № 12. P. 3169—3171.
15. Nu J. C., Bazin H., Chattopadhyaya J. // Tetrahedron. 1987. V. 43. № 10. P. 2355—2368.
16. Calvo-Mateo A., Camarasa M. J., Diaz-Ortiz A., De las Heras F. G. // Tetrahedron. 1988. V. 44. № 15. P. 4895—4903.
17. Sarfati S. K., Pichet S., Guerreiro C., Namane A., Huynh-Dinh T., Igolen J. // Tetrahedron. 1987. V. 43. № 15. P. 3491—3497.

18. Skalski B., Bartoszewicz J., Paszyc S., Gdaniec Z., Adamiak R. N. // *Tetrahedron*. 1987. V. 43. № 17. P: 3955—3961.
19. Adamiak R. N., Biala E., Gdaniec Z., Mielewczyk S., Skalski B. // *Chem. scr.* 1986. V. 26. P. 3—11.
20. Sekine M., Matsuzaki J., Hata T. // *J. Org. Chem.* 1982. V. 47. № 29. P. 5771—5780.
21. Sekine M., Matsuzaki J., Hata T. // *Tetrahedron Lett.* 1982. V. 23. № 52. P. 5287—5290.
22. Kamimura T., Tsuchiya M., Koura K., Sekine M., Hata T. // *Tetrahedron Lett.* 1983. V. 24. № 26. P. 2775.
23. Kamimura T., Tsuchiya M., Urakami K., Koura K., Sekine M., Shinozaki K., Miura K., Hata T. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1984. V. 106. № 16. P. 4552—4557.
24. Sekine M., Matsuzaki J., Satoh M., Hata T. // *J. Org. Chem.* 1982. V. 47. № 3. P. 571—573.
25. Тактакишвили М. О., Лебедево Е. Н. // *Изв. АН ГССР.* 1987. Т. 13. № 4. С. 268—275.
26. Lebedenko E. N., Vinogradov S. V., Taktakishvili M. O., Ryabtseva M. P., Berlin Yu. A. // *Phosphorus Chemistry Directed Towards Biology* / Ed. Stec W. J. Amsterdam: Elsevier, 1986. P. 59—64.
27. Mielewczyk S., Gdaniec Z., Bobrowska G., Adamiak R. N. // *Nucleosides and Nucleotides*. 1987. V. 6. № 1—2. P. 273—277.
28. Adamiak R. N., Biala E., Skalski B. // *Nucl. Acids Res.* 1985. V. 13. № 8. P. 2983.
29. Gdaniec Z., Mielewczyk S., Adamiak R. N. // *Phosphorus Chemistry Directed Towards Biology* / Ed. Stec W. J. 1986. P. 47—53.
30. Skalski B., Adamiak R. N., Paszyc S. // *Nucl. Acids Sympos. Scr.* 1984. V. 14. P. 213—224.
31. Daskalov H. P., Sekine M., Hata T. // *Tetrahedron Lett.* 1980. V. 21. № 36. P. 3899—3902.
32. Reese C. B., Ubasawa A. // *Tetrahedron Lett.* 1980. V. 21. № 20. P. 2265—2268.
33. Reese C. B., Ubasawa A. // *Nucl. Acids Res. Special Publication*. 1980. V. 7. P. 5.
34. Reese C. B., Richards K. H. // *Tetrahedron Lett.* 1985. V. 26. № 22. P. 2245—2248.
35. Reese C. B., Skone P. A. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans I*. 1984. № 5. P. 1263—1271.
36. Wolkus B. E., Kiely J. S., Rapport H. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1982. V. 104. № 21. P. 5702—5708.
37. Himmelsbach B. S., Shulz T., Trichtinger R., Charubala R., Pfleiderer W. // *Tetrahedron Lett.* 1984. V. 10. № 1. P. 59—62.
38. Gaffney B. L. // *Tetrahedron*. 1984. V. 40. № 15. P. 3391—3393.
39. Shulz B. S., Pfleiderer W. // *Tetrahedron Lett.* 1983. V. 24. № 34. P. 3587—3590.
40. Engels J. N., Mag M. // *Nucleosides and Nucleotides*. 1987. V. 6. № 1—2. P. 473—475.
41. Himmelsbach F., Shulz B. S., Trichtinger T., Charubala K., Pfleiderer W. // *Tetrahedron*. 1984. V. 40. № 1. P. 59—67.
42. Pistorius A. M. A., Claesen C. A. A., Kremer F. J. B., Rijk E. A. V., Tesser C. I. // *Nucleosides and Nucleotides*. 1987. V. 6. № 1, 2. P. 389—390.
43. Ohtsuka E., Yamane A., Ikehara M. // *Nucl. Acids Res.* 1983. V. 11. № 6. P. 1325—1335.
44. Shulz B. S., Pfleiderer W. // *Nucleosides and Nucleotides*. 1987. V. 6. № 1, 2. P. 529—531.
45. Mehta J. B., Ludlum D. B. // *Biochim. et biophys. acta*. 1978. V. 521. № 3. P. 770—775.
46. Cerchman L. L., Ludlum D. B. // *Biochim. et biophys. acta*. 1973. V. 308. № 1. P. 310—316.
47. Singer B. // *Nature*. 1976. V. 264. № 5631. P. 333—337.
48. Shendel P. P., Robins P. E. // *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*. 1978. V. 75. № 19. P. 6017—6023.
49. Cairns J. // *Nature*. 1981. V. 289. № 5806. P. 353—361.
50. Watkins B. E., Rapport H. // *J. Org. Chem.* 1982. V. 47. № 23. P. 4471—4477.
51. Ti G. S., Gaffney B. L., Jones R. A. // *J. Amer. Chem. Soc.* 1982. V. 104. № 5. P. 1316—1319.
52. Stawinski J., Horumi T., Natang S. A., Bahl C. P., Wu R. // *Nucl. Acids Res.* 1977. V. 4. № 2. P. 353—371.
53. Bridson P. K., Markiewicz W., Reese C. B. // *J. Chem. Soc. Chem. Commun.* 1977. P. 447—448, 791—801.
54. Reese C. B., Chattopadhyaya J. H. // *Tetrahedron Lett.* 1982. V. 23. № 46. P. 4793—4796.
55. Atkinson T., Smith M. // *Oligonucleotide Synthesis, a Practical Approach* / Ed. Gait M. J. Oxford: IRL Press, 1984. P. 75—77.

Поступила в редакцию
10.III.1989

THE SYNTHESIS OF 6-O-ALKYLGUANOSINE SYNTHONS
OF RIBO- AND DEOXYRIBO SERIES FOR THE PHOSPHOTRIESTER
SYNTHESIS OF OLIGONUCLEOTIDES

TAKTAKISHVILI M. O., TABDJOUN A., YARTSEVA I. V.*

Tbilisi state university:

**Academy of medical sciences of the USSR, All-Union cancer
Research centre, Moscow*

A number of 6-O-alkylsubstituted deoxy- and riboguanosines of potential carcinogenic and mutagenic activity have been synthesised by the reaction of deoxy- and riboguanosine with phenylchlorotyioformate followed by N-isobutyrylation, 5'-dimethoxytritylation and 3'-phosphorylation. The fully protected 6-O-alkyl guanosine-3'-phosphates thus obtained are versatile G-units for the oligonucleotide phosphotriester synthesis.