



УДК 546.183 : 546.22 : 577.113.6

© 1990 г.

*Е. И. Квасюк, Т. И. Гулак, И. А. Михайлопуло***СИНТЕЗ ТИОФОСФАТНЫХ АНАЛОГОВ ОЛИГОРИБОАДЕНИЛАТОВ  
С ПОМОЩЬЮ САЛИЦИЛХЛОРОФОСИТА***Институт биоорганической химии АН БССР, Минск*

Получены различные тиофосфатные аналоги олигорибоаденилатов с использованием салицилхлорфосфита для образования межнуклеозидной фосфодиэфирной связи. Строение синтезированных соединений доказано с помощью УФ-, КД- и <sup>1</sup>H-ЯМР-спектроскопии и ферментативного гидролиза.

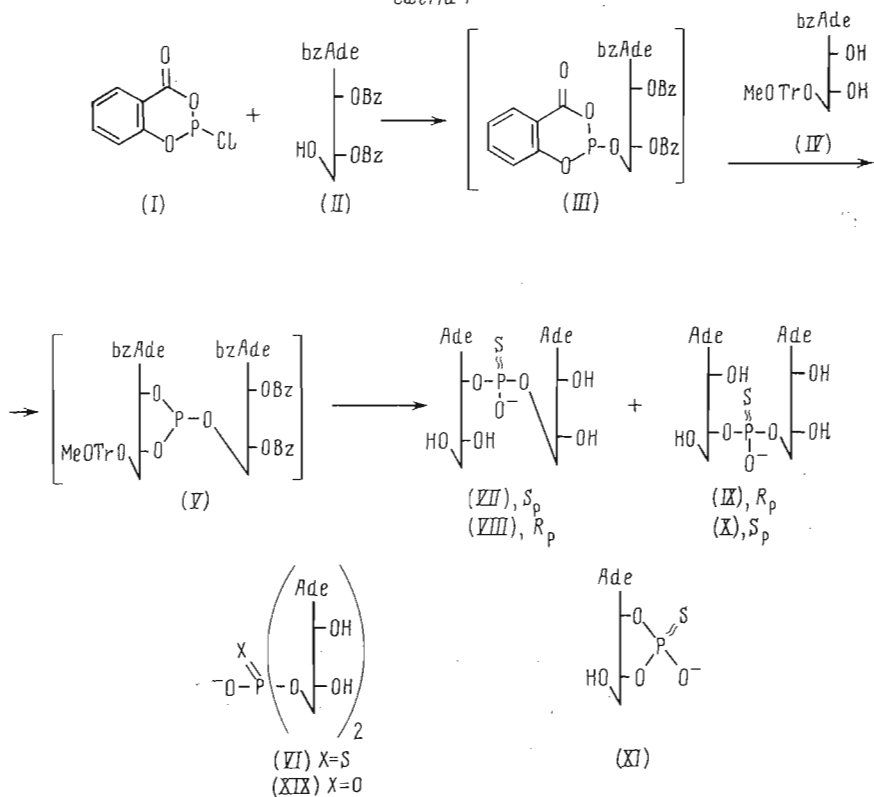
Важная роль 5'-трифосфатов (2'—5')олигоадениловой кислоты (ppp(Ap)<sub>n</sub>A, где  $n \geq 2$ ) в качестве медиаторов противовирусного действия интерферона в настоящее время убедительно доказана [1]. В результате взаимодействия ppp(Ap)<sub>n</sub>A с латентной эндорибонуклеазой L (РНКазы L) образуется активная форма фермента, которая гидролизует мРНК и рРНК, ингибируя тем самым репликацию вируса [1]. С другой стороны, ppp(Ap)<sub>n</sub>A инактивируется в клетке в результате гидролиза фосфодиэфирной связи под действием 2',5'-фосфодиэстеразы [2]. Выяснение роли различных структурных элементов ppp(Ap)<sub>n</sub>A в метаболизма (см., например, работу [3]) и в процессе связывания и активации РНКазы L [4] представляет значительный интерес для понимания механизма этих процессов и поиска соединений с высокой противовирусной активностью в ряду аналогов ppp(Ap)<sub>n</sub>A [5], особенно тиофосфатных аналогов природных соединений [6—8].

В настоящей работе нами изучены новые подходы к синтезу тиофосфатных аналогов (2'—5') олигомеров адениловой кислоты с целью исследования их биохимических свойств. В синтезе динуклеозидтиофосфатов (схема 1) был использован 2-хлор-5,6-бензо-1,3,2-диоксафосфоринон-4 (салицилхлорфосфит) (I) [9], который недавно был предложен для получения гидрофосфорильных производных (Н-фосфонатов) углеводов и нуклеозидов [10—12], а также α-тионуклеозид-5'-трифосфатов [13]. Ранее нами была показана возможность использования хлорфосфита (I) для образования межнуклеозидных фосфодиэфирных связей [14, 15].

Взаимодействие хлорида (I) с 6-N,2'-O,3'-O-трибензоиладенозином (II) [16] в хлористом метиле в присутствии пиридина при 0° С и последующая обработка промежуточным образующегося эфира салицилфосфористой кислоты (III) 6-N-бензоил-5'-O-монометокситритиладенозином (IV) [17] приводят, по-видимому, к циклическому эфиру фосфористой кислоты (V) (ср. с данными работы [18]). Соединение (V) детектировалось с помощью ТСХ, однако ввиду его неустойчивости в индивидуальном виде не было выделено, и после упаривания реакционной смеси остаток обрабатывался раствором серы в пиридине. Хроматографией образующейся смеси продуктов на силикагеле были выделены три фракции (А, Б и В), которые давали положительную реакцию при ТСХ на наличие монометокситритильной группы. Последовательной обработкой каждой из фракций 2% раствором TsOH, затем насыщенным при 0° С раствором аммиака в метаноле и хроматографией на DEAE-целлюлозе были получены: из фракции А — тиоаденилил(5'—5')аденозин (VI) с выходом 7,8% и S<sub>p</sub>-диастереомер тиоаде-

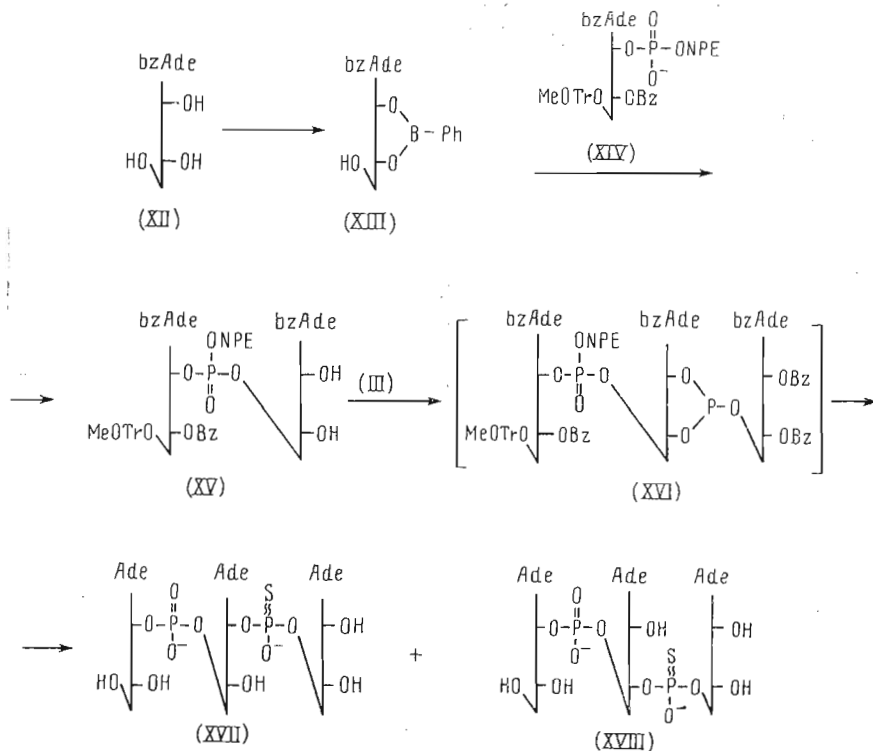
Сокращения: TPS-Cl — 2,4,6-триизопропилбензолсульфохлорид, DBU — 1,8-дизазабицикло[5,4,0]ундецен-7, NPE — 2-(4-нитрофенил)этил.

Схема 1



нилил(2'—5')аденозина (VII) с выходом 4,3%. Из фракции Б:  $R_p$ -диастереомер тиоаденилил(2'—5')аденозина (VIII) с выходом 2,6% и  $R_p$ - и  $S_p$ -диастереомеры тиоаденилил(3'—5')аденозина (IX) и (X) с выходами 2,4 и 3,3% соответственно. Из фракции В: аденозин 2'—3'-циклотиофосфат (XI) в виде смеси (~1:1)  $R_p$ - и  $S_p$ -диастереомеров (согласно данным  $^1\text{H-NMR}$ -спектра) с суммарным выходом 4,5%. Наряду с тиофосфатными аналогами (VI)—(X) были выделены также в незначительных количествах соответствующие диаденозинмонофосфаты, которые образуются в результате обмена серы на кислород, по-видимому, в процессе деблокирования [19].

Описанный выше подход к синтезу динуклеозидтиофосфатов с помощью хлорфосфита (I) был использован далее для получения тринуклеозиддифосфатов, содержащих тиофосфатную группу между 2'(3')-концевым и средним нуклеозидными фрагментами (схема 2). В качестве одного из исходных соединений в синтезе тримеров был использован 6-N,3'-O-дибензоил-5'-O-монометокситригладенилил{2'-[O<sup>P</sup>-2-(4-нитрофенил)этил]-5'}-6-N-бензоиладенозин (XV), который был получен в результате конденсации 2',3'-фенилборната 6-N-бензоиладенозина (XIII) с диэфиром (XIV) [20] в присутствии смеси TPS-Cl — тетразол (1 : 3) с выходом 90%. Фенилборнат (XIII) был синтезирован из 6-N-бензоиладенозина (XII) [21] и фенилборной кислоты в пиридине [22] с выходом 77%. Фенилборнатная защитная группа была устойчивой в безводных условиях конденсации в пиридине, что отмечалось ранее для 2',3'-фенилборната аденозина [22], однако она удалялась в процессе ТСХ на силикагеле. Взаимодействием димера (XV) с циклическим эфиром салицилфосфористой кислоты (III), последующей обработкой промежуточно образующегося тримера (XVI) раствором серы в пиридине и последовательным деблокированием 2% раствором TsOH, раствором DBU в пиридине и насыщенным при 0° С раствором аммиака в метаноле были выделены с помощью ионообменной хроматографии на DEAE-целлюлозе аденилил(2'—5')тиоаденилил(2'—5')аденозин (XVII) и аденилил(2'—5')тиоаденилил(3'—5')аденозин (XVIII) в виде смесей  $R_p$ - и  $S_p$ -диастереомеров с выходами 11,9 и 8,6% соответственно. Были выделены также тиоаденилил(5'—5')аденозин (VI) (6,2%) и аденилил(5'—



5'-аденозин (XIX) (3,5%). Попытки разделить тримеры (XVII) и (XVIII) на индивидуальные диастереомеры методами ионообменной хроматографии и препаративной ТСХ на силикагеле и целлюлозе оказались безуспешными. При анализе диастереомерной смеси (XVII) методом ВЭЖХ были получены два пика с  $R_t$  18,51 и 19,91 мин и соотношением интенсивностей 48 : 52, при анализе смеси (XVIII) — два пика с  $R_t$  19,91 и 21,91 мин и соотношением интенсивностей 74 : 26.

Строение синтезированных соединений подтверждено данными  $^1\text{H}$ -ЯМР-, УФ- и КД-спектров. Характер фосфодиэфирных связей был установлен на основании данных их  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектров (таблица), в параметрах которых наблюдались те же закономерности, что и у природных соединений [23, 24].

Необходимо отметить, что КД-спектры тиоаналогов (VII)—(X) имеют вид, подобный таковым для природных соединений [23], в то время как в КД-спектрах симметричных димеров (VI) и (XIX) отсутствует характерный для (2'-5')- и (3'-5')-изомеров переход в области 220 нм. КД-спектр циклотрифосфата (XI) соответствует таковому для аденозина [25].

При отнесении абсолютной конфигурации димеров (VII), (VIII) и (IX), (X) были использованы два критерия: 1) скорость гидролиза диастереомерных пар соединений под действием фосфодиэстеразы змеяного яда [6]; 2) хроматографическая подвижность диастереомеров в процессе ВЭЖХ [26]. Соединения (VIII) и (IX) гидролизуются со значительно большей скоростью, чем их соответствующие изомеры (VII) и (X). На этом основании первым двум следует приписать  $R_p$ -конфигурацию, а вторым —  $S_p$  [6]. Для димеров (VIII) и (IX) времена удерживания (17,55 и 22,1 мин соответственно) меньше таковых для соответствующих изомерных соединений (VII) и (X) (18,01 и 29,2 мин соответственно). На основании данных работы [26], соединения (VIII) и (IX) должны иметь  $R_p$ -конфигурацию, а изомеры (VII) и (X) —  $S_p$ . Оба критерия дают согласованные результаты.

Симметричные димеры (VI) и (XIX) превращались под действием фосфодиэстеразы в смесь аденозина и аденозин-5'-монофосфата в соотношении 1 : 1 [26]. При этом димер (XIX) подвергался расщеплению со значитель-

<sup>1</sup>H-ЯМР-спектры полученных соединений  
Приведены химические сдвиги (δ, м. д.) и константы спин-спинового взаимодействия (J, Гц)

Соединение	H <sub>2</sub> , H <sub>8</sub>	H <sub>1</sub> '	H <sub>2</sub> '	H <sub>3</sub> '	H <sub>4</sub> '	H <sub>5</sub> ' <sub>a</sub>	H <sub>5</sub> ' <sub>b</sub>	J <sub>1', 2'</sub>	J <sub>2', 3'</sub>	J <sub>3', 4'</sub>	J <sub>4', 5'a</sub>	J <sub>4', 5'b</sub>	J <sub>5'a, 5'b</sub>
(VI)	6,83с 6,81с 6,74с 6,73с	4,66д 4,64д	3,35дд 3,33дд	3,26дд 3,23дд	3,15м (2H)	3,11м 3,05м	2,96м (2H)	4,8 4,8	4,8 4,8	4,8 4,8			
(VII)	6,91с 6,90с 6,88с 6,50с	4,89д 4,55д	4,21м 3,02м	3,02м (3H)	2,88м	2,53дд 2,83дд	2,43дд 2,69м	4,8 3,0	6,0		2,4	3,6	13,2
(VIII)	6,98с (2H) 6,89с 6,59с	4,92д 4,62д	4,09м 3,40дд	3,12дд 3,06дд	3,03м 2,95м	2,62дд 2,93м	2,52дд 2,67м	4,8 4,2	4,8 4,2	4,8 4,8	2,4	3,6	13,2
(IX)	7,10с 6,95с 6,86с 6,66с	4,66д 4,63д		3,10-3,22м(7H)			2,75дд	2,96м 2,65дд	3,0 3,6		2,4	3,6	13,2
(X)	7,05с 6,95с 6,84с 6,71с	4,60д 4,74д	3,46м 3,36м	(2H) 3,26дд	3,13м (2H)	2,59м 3,09м	(2H) 2,98м	4,8 3,6	4,8 4,8	4,8			
(XI)	7,02с 7,00с 6,89с (2H)	5,10д 5,02д	4,25м 4,20м	3,95м (2H)	3,34м 3,28м	2,66	(4H)	4,2 4,2	7,2 7,2	3,6 3,6	3,6 3,6	3,6 3,6	13,2 13,2
(XIII)*	9,03с 8,92с	6,75д	5,47дд	5,28дд	4,78м	4,18м	(2H)	2,8	6,0	5,5	4,2	3,3	12,0
(XIX)	6,80с 6,66с	4,61д	3,32дд	3,18дд	3,08м	2,94м	(2H)	4,8	5,4	4,8			

\* В дейтеропиридине, внутренний стандарт — тетраметилсилан.

но большей скоростью. Циклический тиофосфат (XI) был устойчив к действию как фосфодиэстеразы змеиного яда, так и щелочной фосфатазы.

В заключение следует отметить, что, несмотря на низкие выходы желаемых тиофосфатов, изученный подход может быть использован для одновременного получения олигомеров, содержащих (2'-5')- и (3'-5')-тиофосфодиэфирные связи с целью изучения ряда структурно-функциональных проблем.

### Экспериментальная часть

УФ-спектры записаны на спектрофотометре Specord UV-Vis (Carl Zeiss, ГДР), <sup>1</sup>H-ЯМР-спектры — на спектрометре WM-360 (Bruker, ФРГ) (растворитель — D<sub>2</sub>O, внутренний стандарт — *трет*-бутанол), КД-спектры — на спектрополяриметре J-20 (Jasco, Япония). ВЭЖХ проводили на хроматографе Altex (Beckman, ФРГ), используя колонку (4,5 × 250 мм) Ultrasphere ODS C-18 (Beckman, ФРГ). Элюировали со скоростью 0,8 мл/мин в линейном градиенте концентрации 50% водного метанола в 0,05 М фосфатном буфере (рН 7,0) от 0 до 50% за 30 мин. ТСХ проводили на пластинках силикагеля F 1500 LS 254 (Schleicher und Schüll, ФРГ). Системы растворителей для ТСХ: хлороформ — метанол, 9 : 1 (А); изопропиловый спирт — вода — концентрированный водный аммиак, 7 : 1 : 2 (Б). Колоночную хроматографию проводили на силикагеле L 40/100 (ЧСФР) и на DEAE-целлюлозе SS-23 (Serva, ФРГ).

В работе использовали фосфодиэстеразу змеиного яда (КФ 3.1.4.1; Boehringer) и щелочную фосфатазу из стенок кишок теленка (КФ 3.1.3.1; Boehringer). Энзиматический гидролиз проводили по методика, описанной в работе [26], анализируя состав продуктов реакции с помощью препаративной ТСХ на пластинках силикагеля.

В работе использована фенилборная кислота (Fluka, Швейцария).

*Получение диаденозинмоноиофосфатов (VII) — (X).* К охлажденной до 0° С суспензии 0,25 г (0,43 ммоль) трибензоиладенозина (II) в смеси 3 мл хлористого метилена и 0,1 мл пиридина добавляли при перемешивании в атмосфере аргона раствор 0,11 г (0,53 ммоль) салицилхлорфосфита (I) в 1,5 мл хлористого метилена. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 1 ч, добавляли 0,13 мл (0,13 г, 1,64 ммоль) N-метилимидазола и 0,34 г (0,53 ммоль) 6-N-бензоил-5'-O-монометокситритиладенозина (IV), перемешивали 3 ч и упаривали досуха. Остаток растворяли в 5 мл пиридина и к полученному раствору добавляли 0,34 г порошкообразной серы. Суспензию перемешивали 20 ч, осадок отфильтровывали, фильтрат упаривали досуха, остаток хроматографировали на силикагеле (120 см<sup>3</sup>), элюируя продукты реакции последовательно хлороформом, затем в линейном градиенте концентрации метанола в хлороформе (от 0 до 10% по объему) и далее смесью хлороформ — метанол, 9 : 1. В процессе хроматографии выделяли 40 мг исходного трибензоиладенозина (II), 100 мг 6-N-бензоил-5'-O-монометокситритиладенозина (IV) и три фракции (А, Б, В), содержащие смеси продуктов и дающие положительную цветную реакцию (ТСХ) на наличие монометокситригильной группы. Каждую из фракций обрабатывали следующим образом: упаривали досуха, остаток растворяли в 20 мл 2% раствора TsOH в смеси хлористый метилен — хлороформ (7 : 3). Через 10 мин реакционную смесь разбавляли хлороформом до 100 мл и обрабатывали 0,1 М фосфатным буфером (pH 7,0; 2 × 50 мл). Органический слой отделяли, сушили безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали. Остаток растворяли в 30 мл насыщенного при 0° С раствора аммиака в метаноле, спустя 20 ч упаривали досуха и хроматографировали на DEAE-целлюлозе (50 см<sup>3</sup>; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-форма). Продукты реакции элюировали раствором ТЕАВ в линейном градиенте концентрации от 0,001 до 0,2 М. Фракции, содержащие индивидуальные соединения, объединяли и лиофилизировали. Таким образом, в результате описанной обработки фракций А, Б и В получили в виде триэтиламониевых солей в порядке выхода с колонки:

*из фракции А:* тиаденилил(5' — 5')аденозин (VI), выход 704 ОЕ<sub>260</sub> (7,8%),  $R_f$  0,70 (Б),  $R_t$  24,5 мин; УФ-спектр (H<sub>2</sub>O),  $\lambda_{\max}$ , нм (lg  $\epsilon$ ): 261 (4,39); КД-спектр (H<sub>2</sub>O),  $\lambda$ , нм ( $[\theta] \cdot 10^{-3}$ ): 227 (0), 232 (+0,2), 236 (0), 253 (-1,8), 261 (0), 269 (+1,9), 282 (0), 286 (-0,2), 291 (0);

тиаденилил(2' — 5')аденозин (VII), выход 405 ОЕ<sub>260</sub> (4,3%),  $S_p$ -диастереомер,  $R_f$  0,74 (Б),  $R_t$  18,01 мин; УФ-спектр (H<sub>2</sub>O),  $\lambda_{\max}$ , нм (lg  $\epsilon$ ): 260 (4,41); КД-спектр (H<sub>2</sub>O),  $\lambda$ , нм ( $[\theta] \cdot 10^{-3}$ ): 213 (0), 219 (+4,7); 229 (+1,5), 238 (0), 250 (-3,0), 259 (0), 270 (+3,3), 287 (+0,3);

*из фракции Б:* тиаденилил(2' — 5') аденозин (VIII); выход 244 ОЕ<sub>260</sub> (2,6%),  $R_p$ -диастереомер,  $R_f$  0,80 (Б),  $R_t$  17,55 мин; УФ-спектр (H<sub>2</sub>O),  $\lambda_{\max}$ , нм (lg  $\epsilon$ ): 260 (4,41); КД-спектр (H<sub>2</sub>O),  $\lambda$ , нм ( $[\theta] \cdot 10^{-3}$ ): 212 (0), 218 (+2,8), 227 (+0,7), 233 (0), 251 (-3,7), 270 (+2,8), 286(0), 296 (-0,2), 305 (0);

тиаденилил(3' — 5')аденозин (IX), выход 221 ОЕ<sub>260</sub> (2,4%),  $R_p$ -диастереомер,  $R_f$  0,74 (Б),  $R_t$  22,1 мин; УФ-спектр (H<sub>2</sub>O),  $\lambda_{\max}$ , нм (lg  $\epsilon$ ): 260 (4,41); КД-спектр (H<sub>2</sub>O),  $\lambda$ , нм ( $[\theta] \cdot 10^{-3}$ ): 214 (0), 219 (+3,2), 226 (+1, 2), 233 (0), 250 (-5,7), 259 (0), 269 (+5,1), 290 (0);

тиаденилил (3' — 5')аденозин (X), выход 308 ОЕ<sub>260</sub> (3,3%),  $S_p$ -диастереомер,  $R_f$  0,74 (Б),  $R_t$  29,2 мин. УФ-спектр (H<sub>2</sub>O),  $\lambda_{\max}$ , нм (lg  $\epsilon$ ): 260 (4,41); КД-спектр (H<sub>2</sub>O),  $\lambda$ , нм ( $[\theta] \cdot 10^{-3}$ ): 213 (0), 218 (+2,1), 225 (+0,9), 223 (0), 249 (-3,8), 259 (0), 269 (+2,9), 286 (+0,4);

*из фракции В:* аденозин-2',3'-циклотиофосфат (XI), выход 307 ОЕ<sub>260</sub> (4,5%), смесь  $R_p$ - и  $S_p$ -диастереомеров,  $R_f$  0,75 (Б),  $R_t$  14,4 мин; УФ-спектр (H<sub>2</sub>O),  $\lambda_{\max}$ , нм (lg  $\epsilon$ ): 260 (4,18); КД-спектр (H<sub>2</sub>O),  $\lambda$ , нм ( $[\theta] \cdot 10^{-3}$ ):

219 (0), 223 (+1,2), 231 (0), 250 (-7,1), 265 (0), 274 (+0,9), 282 (0), 288 (-0,6), 293 (0).

*2',3'-Фенилборонат 6-N-бензоиладенозина (XIII).* К раствору 0,74 г (2,0 ммоль) 6-N-бензоиладенозина (XII) в 100 мл пиридина добавляли при перемешивании в течение 5 мин раствор 0,24 г (2,0 ммоль) фенилборной кислоты в 50 мл пиридина. Реакционную смесь кипятили 2 ч и упаривали досуха. Остаток растворяли в 10 мл диоксана и добавляли 5 мл эфира до помутнения. Выпавший осадок отфильтровывали, получили 0,7 г (77%) соединения (XIII) в виде аморфного порошка. Фенилборонат (XIII) устойчив в пиридиновом растворе, но разлагается при плавлении и в процессе ТСХ.

*6-N,3'-O-Дибензоил-5'-O-монометокситрииладенилил - {2'-[OP-2-(4-нитрофенил)этил]-5'}-6-N-бензоиладенозин (XV).* К раствору 46 мг (0,1 ммоль) фенилбороната (XII), 108 мг (0,1 ммоль) диэфира (XIV) в 1 мл пиридина добавляли 42 мг (0,6 ммоль) тетразола, 61 мг (0,2 ммоль) TPS-Cl и перемешивали смесь 16 ч. Раствор разбавляли хлороформом до 50 мл и обрабатывали 0,1 М фосфатным буфером, pH 7,0 (2 × 15 мл). Органический слой отделяли, сушили безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, упаривали досуха, остаток хроматографировали на силикагеле (30 см<sup>3</sup>). Продукты реакции элюировали сначала хлороформом, затем смесью хлороформ — метанол (24 : 1). Фракции, содержащие соединение (XV), объединяли и упаривали. Остаток растворяли в 3 мл хлороформа и выпаривали в гексан (80 мл). Получили 120 мг (90%) динуклеозидфосфата (XV) в виде аморфного порошка, R<sub>f</sub> 0,55 (A); УФ-спектр (MeOH), λ<sub>max</sub> нм (lg ε): 234 (4,74), 281 (4,84).

*Получение тиофосфатных аналогов триаденозиндифосфатов.* К раствору 88 мг (0,43 ммоль) салицилхлорфосфита (I) в 1 мл хлористого метилена, охлажденному до -78° С, добавляли при перемешивании в течение 5 мин раствор 209 мг (0,36 ммоль) трибензоиладенозина (II) и 0,21 мл пиридина в 2 мл хлористого метилена. Реакционную смесь перемешивали 30 мин при -78° С, затем доводили температуру до комнатной, добавляли 320 мг (0,24 ммоль) динуклеозидфосфата (XV), перемешивали 20 ч и упаривали досуха. Остаток растворяли в 5,4 мл пиридина, добавляли 340 мг порошкообразной серы и перемешивали 20 ч. Смесь упаривали досуха, остаток хроматографировали на силикагеле (200 см<sup>3</sup>). Продукты реакции элюировали хлороформом, затем метанолом в хлороформе (линейный градиент концентрации от 0 до 20% по объему). Фракцию, дающую положительную цветную реакцию (ТСХ) на наличие монометокситриительной группы, упаривали досуха. Остаток растворяли в 50 мл 2% раствора Ts-OH в смеси хлористый метилен — метанол (7 : 3). Через 15 мин реакционную смесь разбавляли хлороформом до 150 мл и обрабатывали 0,1 М фосфатным буфером, pH 7,0 (2 × 100 мл). Органический слой отделяли, сушили безводным Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали. Остаток растворяли в 50 мл 0,5 М раствора DBU в пиридине, выдерживали 20 ч, добавляли 25 мл 1 М раствора уксусной кислоты в пиридине и упаривали досуха. Остаток упаривали с пиридином (3 × 20 мл), растворяли в 50 мл насыщенного при 0° С раствора аммиака в метаноле и выдерживали 20 ч. Реакционную смесь упаривали досуха, остаток хроматографировали на DEAE-целлюлозе (150 см<sup>3</sup>; HCO<sub>3</sub><sup>-</sup>-форма). Продукты реакции элюировали раствором TEAB в линейном градиенте концентрации от 0,005 до 0,25 М. Фракции, содержащие продукты реакции, объединяли и лиофилизировали. Получили в виде триэтиламмониевых солей в порядке выхода с колонки:

аденилил(5'—5')аденозин (XIX), выход 153 ОЕ<sub>260</sub> (3,5%), R<sub>f</sub> 0,71(Б), R<sub>t</sub> 17,86 мин; УФ-спектр (H<sub>2</sub>O), λ<sub>max</sub>, нм (lg ε): 259 (4,39); КД-спектр (H<sub>2</sub>O), λ, нм ([θ] · 10<sup>-3</sup>): 207 (0), 212 (-2,3), 225 (0), 240 (0), 253 (-4,9), 26 : (0), 274 (+5,6), 291 (0);

тиоаденилил(5'—5')аденозин (VI), выход 276 ОЕ<sub>260</sub> (6,2%);

аденилил(2'—5')тиоаденилил(2'—5')аденозин (XVII), выход 1027 ОЕ<sub>260</sub> (11,9%), R<sub>f</sub> 0,68 (Б), в виде смеси R<sub>p</sub>- и S<sub>p</sub>-диастереомеров с R<sub>t</sub> 18,51 и 19,91 мин соответственно; УФ-спектр (H<sub>2</sub>O), λ<sub>max</sub>, нм: 259;



аденилил(2'-5')тиоаденилил(3'-5')аденозин (XVIII), выход 745 ОЕ<sub>260</sub> (8,6%),  $R_f$  0,68 (Б), в виде смеси  $R_p$ - и  $S_p$ -диастереомеров с  $R_f$  19,91 и 21,91 мин соответственно; УФ-спектр (H<sub>2</sub>O),  $\lambda_{\max}$ , нм: 259.

Авторы считают своим приятным долгом выразить благодарность немецкому исследовательскому обществу (г. Бонн, ФРГ) и Фонду им. А. фон Гумбольдта (г. Бонн — Бад — Годесберг, ФРГ) за частичную финансовую поддержку настоящего исследования, а также сотрудникам института Н. Б. Хрипач и Г. С. Янковской за запись <sup>1</sup>H-ЯМР- и КД-спектров.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Torrence P. F. // Biological response modifiers new approaches to disease intervention. N. Y.: Acad. Press. Inc., 1985. P. 77—105.
2. Trujillo M. A., Barbet J., Caila H. // Biochimie. 1988. V. 70. № 12. P. 1733—1741.
3. Alster D., Brozda D., Kitade Y., Wong A., Charubala R., Pfeleiderer W., Torrence P. F. // Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1986. V. 141. № 2. P. 555—561.
4. Torrence P. F., Brozda D., Alster D., Charubala R., Pfeleiderer W. // J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 3. P. 1131—1139.
5. Huss S., Gosselin G., Pompon A., Imbach J.-L. // Nucleosides, Nucleotides. 1986. V. 5. № 3. P. 275—300.
6. Eckstein F. // Ann. Rev. Biochem. 1985. V. 54. P. 367—402.
7. Kariko K., Sobol R. W., Jr., Suhadolnik L., Li S. W., Reichenbach N. L., Suhadolnik R. J., Charubala R., Pfeleiderer W. // Biochemistry. 1987. V. 26. № 22. P. 7127—7135.
8. Suhadolnik R. J., Lee C., Kariko K., Li S. W. // Biochemistry. 1987. V. 26. № 22. P. 7136—7142.
9. Houben-Weyl // Methoden der organischen chemie. Stuttgart: Georg Thieme Verlag, 1964. B. XII/2. S. 112.
10. Hermans J. P. G., De Vroom E., Elie C. J. J., Van der Marel G. A., Van Boom J. H. // Rec. trav. chim. 1986. V. 105. № 11. P. 510—511.
11. Marugg J. E., Tromp M., Kuyl-Yeheskiely E., Van der Marel G. A., Van Boom J. H. // Tetrahedron Lett. 1986. V. 27. № 23. P. 2661—2664.
12. Веньямина А. Г., Комарова Н. И., Левина А. С., Ренкова М. Н. // Биоорганическая химия. 1988. Т. 14. № 4. С. 484—489.
13. Ludwig J., Eckstein F. // J. Org. Chem. 1989. V. 54. № 3. P. 631—635.
14. Квасюк Е. И., Ткаченко О. В., Кулак Т. И., Зайцева Г. В., Михайлопуло И. А. Способ получения (2'-5')- и (3'-5')днaдeнoзинoнoфoсфaтoв. А. с. 1397455 // Б. И. 1988. № 19. С. 100.
15. Квасюк Е. И., Кулак Т. И., Зайцева Г. В., Ткаченко О. В., Михайлопуло И. А. // VIII Всесоюз. симпоз. по целенаправленному изысканию лекарственных веществ. Компоненты нуклеиновых кислот. Тез. докл. Рига, 24—26 января 1989. С. 46—47.
16. Квасюк Е. И., Калинин Е. Н., Кулак Т. И., Подкопаева Т. Л., Михайлопуло И. А., Попов И. Л., Барай В. Н., Зинченко А. И. // Биоорганическая химия. 1985. Т. 11. № 11. С. 1239—1247.
17. Flockerzi D., Silber G., Charubala R., Shlosser W., Varma R. S., Greegan F., Pfeleiderer W. // Liebigs Ann. Chem. 1981. № 9. P. 1568—1585.
18. Shimidzu T., Yamana K., Kanda N., Maikuma S. // Nucl. Acids Res. 1984. V. 12. № 17. P. 3257—3270.
19. Корбридж Д. Фосфор. Основы химии, биохимии, технологии. М.: Мир, 1982. С. 435.
20. Квасюк Е. И., Кулак Т. И., Зайцева Г. В., Михайлопуло И. А., Пфляйдерер В. // Биоорганическая химия. 1984. Т. 10. № 4. С. 506—514.
21. Hall R. H. // Biochemistry. 1964. V. 3. № 6. P. 769—773.
22. Yurkevich A. M., Kolodkina I. I., Varshavskaya L. S., Borodulina-Shvets V. I., Rudakova I. P., Preobrazhenski N. A. // Tetrahedron. 1969. V. 25. № 3. P. 477—484.
23. Doornbos J., Den Hartog J. A. J., Van Boom J. H., Altona C. // Eur. J. Biochim. 1981. V. 116. № 2. P. 403—412.
24. Son T.-D., Chachaty C. // Biochim. et biophys. acta. 1974. V. 335. № 1. P. 1—13.
25. Marlier J. F., Benkovic S. J. // Tetrahedron Lett. 1980. V. 21. № 12. P. 1121—1124.
26. Nelson P. S., Bach C. T., Verheyden J. P. H. // J. Org. Chem. 1984. V. 49. № 13. P. 2314—2317.

Поступила в редакцию  
17.I.1990

SYNTHESIS OF PHOSPHOROTHIOATE ANALOGUES  
OF OLIGORIBOADENYLATES USING SALICYLCHLOROPHOSPHITE

*Institute of Bioorganic Chemistry,  
Academy of Sciences of the Byelorussian SSR, Minsk*

The phosphorothioate analogues of adenylyl(2'—5')adenosine, adenylyl(3'—5')adenosine, adenylyl(5'—5')adenosine and adenylyl(2'—5')-*P*-thioadenylyl(3'—5')adenosine and adenylyl(2'—5')-*P*-thioadenylyl(2'—5')adenosine have been synthesized using salicylchlorophosphite for formation of internucleoside phosphodiester bonds. In the case of (2'—5') and (3'—5') dimers, all compounds were obtained as individual *R<sub>p</sub>*- and *S<sub>p</sub>*-diastereoisomers. The structure of the synthesized compounds was confirmed by UV, CD and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy data, and enzymatic hydrolysis.