



УДК 547.963.32 : 542.91

**ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ ДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОЗИДОВ  
И ДИНУКЛЕОЗИДФОСФАТОВ С ФОСФОРИЛХЛОРИМИДАЗОЛИДАМИ  
И ФОСФОРИЛТРИМИДАЗОЛИДОМ В ПИРИДИНЕ**

*Сергеева Н. Ф., Смирнов В. Д., Шабарова З. А.,  
Прокофьев М. А., Зарытова В. Ф.,\* Лебедев А. В.,\*  
Клюorre Д. Г.\**

*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова.*

*\*Новосибирский институт органической химии СО Академии наук СССР*

Методом импульсной спектроскопии ЯМР на ядрах  $^{31}\text{P}$  исследовано взаимодействие имидазола и хлорокиси фосфора в пиридине. Зарегистрировано образование фосфорилхлоримидазолидов и фосфорилтриимидазолида, спектры которых представляют собой синглеты, смещенные относительно  $\text{POCl}_3$  в сильное поле.

Исследование реакций  $d(\text{MeOTr})\text{T}$  с фосфорилхлоримидазолидами подтвердило их высокую фосфорилирующую активность, фосфорилтриимидазолид ( $\text{POIm}_3$ ) также является удобным агентом, позволяющим осуществлять количественное фосфорилирование 3'-гидроксильной группы нуклеозида при использовании небольших избытков  $\text{POIm}_3$ .

Взаимодействие  $\text{POIm}_3$  с динуклеозидфосфатом  $d(\text{MeOTr})\text{TrT}$  на первой стадии приводит к мгновенному превращению фосфодиэфирной группы в фосфоимидазолиддиэфирную. На второй стадии осуществляется фосфорилирование 3'-гидроксила. Фосфамидные связи в полученном производном разрушаются при гидролизе с образованием  $[d(\text{MeOTr})\text{TrT}]$ .

Недавно для введения 3'-концевой фосфатной группы в 5'-О-метокситрипильные производные олигонуклеотидов был предложен метод, основанный на обработке последних эквимольной смесью хлорокиси фосфора и имидазола [1, 2]. Однако структура фосфорилирующего агента оставалась неисследованной. Не получили объяснения обнаруженные различия в кинетике и эффективности фосфорилирования 3'-оксигруппы в нуклеозидах и олигонуклеотидах.

Настоящая работа посвящена изучению структуры фосфорилирующих реагентов, образующихся в смеси хлорокиси фосфора и имидазола в пиридине, и исследованию их взаимодействия с нуклеозидом  $d(\text{MeOTr})\text{T}$  и динуклеозидфосфатом  $d(\text{MeOTr})\text{TrT}$  методом импульсной  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектроскопии.

При взаимодействии имидазола с  $\text{POCl}_3$  должны образоваться продукты последовательного замещения одного, двух и трех атомов хлора на остаток имидазола. При этом можно ожидать, что в реакционных смесях с соотношением  $\text{POCl}_3 : \text{ImN} = 1:1, 1:2$  и  $1:3$  преобладающими соединениями будут соответственно  $\text{POImCl}_2$ ,  $\text{POIm}_2\text{Cl}$  и  $\text{POIm}_3$ . Спектры  $^{31}\text{P}$ -ЯМР этих соединений должны представлять собой синглеты, тем более смещенные в сильное поле, чем больше атомов хлора заменено на имидазол.

Сокращения: Im — имидазолил; ТПС — трипропилбензолсульфохлорид.

Таблица 1

Соотношение интенсивностей сигналов в спектре  $^{31}\text{P}$ -ЯМР смесей  $\text{POCl}_3$  и имидазола в пиридине при различных избытках имидазола

Соединение	Химический сдвиг, м.д.	Интенсивность сигнала (%) при соотношении $\text{POCl}_3$ — имидазол		
		1:1	1:2	1:3,2
$\text{POCl}_3$	-3,2	24	—	—
$\text{POImCl}_2$	-0,9	57	24	—
$\text{POIm}_2\text{Cl}$	+5,8	19	49	—
$\text{POIm}_3$	+16,3	—	27	100

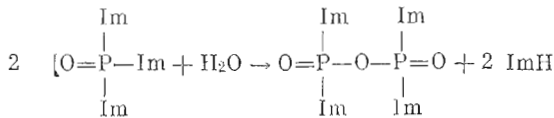
Таблица 2

Состав реакционной смеси при взаимодействии  $d(\text{MeOTr})\text{T}$  (0,4 M) и  $\text{POImCl}_2$  (0,25 M),  $\text{POIm}_2\text{Cl}$  (0,5 M) и  $\text{POIm}_3$  (0,25 M) через 2 мин от начала реакции

Соединение	Химический сдвиг, м.д.	$^{31}\text{P}$ , %	
		исходная фосфорилирующая смесь	реакционная смесь через 2 мин после начала реакции
$\text{POImCl}_2$	-0,84	25	12
$\text{POIm}_2\text{Cl}$	+5,8	50	25
$\text{POIm}_3$	+16,3	25	25
$d(\text{MeOTr})\text{T}-\text{P}(\text{O})(\text{Cl})-\text{Im}$	+1,0	—	13
$d(\text{MeOTr})\text{T}-\text{P}(\text{O})(\text{Im})_2-\text{Im}$	+11,3	—	25

Последнее следует из того, что замена OH-группы на атом хлора в фосфорной кислоте приводит к сдвигу сигнала в слабое поле [3], а введение остатка имидазола — к сдвигу в сильное поле [4]. Действительно, в смесях с различным соотношением  $\text{POCl}_3$  и  $\text{ImH}$  в пиридине мы обнаружили присутствие ожидаемых имидазолидов (табл. 1).

Получение в реакционной смеси  $\text{POIm}_3$  в качестве единственного продукта достигается только при полном отсутствии влаги. При наличии следов влаги в растворе образуется до 20%  $\text{P}^{\text{I}}\text{P}^{\text{II}}$ -тетраимидазолидпирофосфата с  $\delta$  +22,8 м. д. Количественное превращение по схеме



наблюдалось при обработке  $\text{POIm}_3$  0,5 экв. воды.

Как видно из табл. 1, при взаимодействии эквимольных количеств  $\text{ImH}$  и  $\text{POCl}_3$  в пиридине  $\text{POImCl}_2$  не является единственным продуктом реакции, как предполагалось ранее [1, 2]; наряду с ним реакционная смесь содержит  $\text{POIm}_2\text{Cl}$  и  $\text{POCl}_3$ . Очевидно, это обстоятельство может быть причиной побочных процессов при использовании такой смеси в качестве фосфорилирующего агента и объясняет необходимость проведения фосфорилирования при низких температурах [5, 6].

Для сравнения реакционной способности исследуемых имидазольных производных в реакции фосфорилирования 3'-оксигруппы нуклеозида

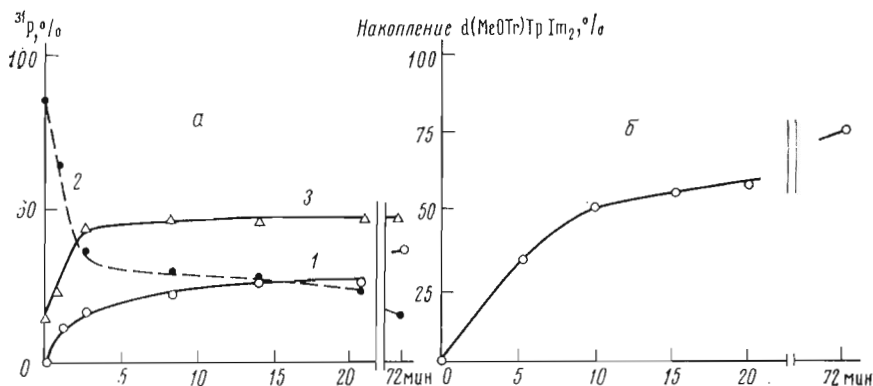


Рис. 1. а — кинетические кривые содержания компонентов в реакционной смеси при взаимодействии  $d(\text{MeOTr})\text{T}$  (0,15 M) и  $\text{POIm}_3$  (1 M) в пиридине ( $30^\circ$ ): 1 —  $d(\text{MeOTr})\text{TrIm}_2$ ; 2 —  $\text{POIm}_3$ ; 3 —  $(\text{POIm}_2)\text{O}$ ; б — зависимость накопления  $d(\text{MeOTr})\text{TrIm}_2$  от времени (определено по интенсивности соответствующего сигнала в  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектре)

$d(\text{MeOTr})\text{T}$  последний обработали 2,5 экв. смеси, содержащей  $\text{POImCl}_2$ ,  $\text{POIm}_2\text{Cl}$  и  $\text{POIm}_3$  в соотношении 1 : 2 : 1 (образуется при смешивании  $\text{POCl}_3$  и  $\text{ImH}$  в соотношении 1 : 2; см. табл. 1). В спектре  $^{31}\text{P}$ -ЯМР, записанном через 2 мин после начала реакции, зарегистрировано уменьшение интенсивности сигналов  $\text{POImCl}_2$  и  $\text{POIm}_2\text{Cl}$  и появление новых сигналов с  $\delta +1$  и  $+11,3$  м. д. Дальнейших изменений спектра не происходит. Суммарная интенсивность этих сигналов составляет  $\sim 40\%$  общей интенсивности, что соответствует превращению производных фосфорной кислоты в количестве, эквивалентном количеству нуклеозида. Поскольку реагируют только производные, содержащие атомы Cl, можно полагать, что происходит замещение именно атома хлора и наблюдаемые продукты взаимодействия представляют собой эфиры метокситрилитимидина и соответственно имидазолхлорфосфорной и диимидазолфосфорной кислот. В соответствии с указанными выше закономерностями в химических сдвигах сигнал с  $\delta +1$  м. д. следует отнести к  $d(\text{MeOTr})\text{TrImCl}$ , а сигнал с  $\delta +11,3$  м. д. — к  $d(\text{MeOTr})\text{TrIm}_2$ .

Сопоставление убыли интенсивности сигналов исходных соединений и интенсивности сигналов продуктов реакции полностью согласуется с этим отнесением (табл. 2).

Таким образом, можно заключить, что смешанные хлоримидазолпроизводные фосфорной кислоты практически мгновенно и количественно реагируют по оксигруппе нуклеозида.

$\text{POIm}_3$  взаимодействует с нуклеозидом значительно медленнее. Для детального исследования этого взаимодействия к  $d(\text{MeOTr})\text{T}$  добавляли 1,7 экв.  $\text{POIm}_3$ . Уже через 2 мин ( $30^\circ$ ) в спектре реакционной смеси регистрируется сигнал с  $\delta +11,3$  м. д., т. е. начинает накапливаться  $d(\text{MeOTr})\text{TrIm}_2$ . Через 1,2 ч выход этого соединения составляет 76%. На рис. 1 представлена кинетика изменения соотношения компонентов этой реакционной смеси.

Анализ реакционной смеси после разложения водой методом БХ и электрофореза показывает образование  $d(\text{MeOTr})\text{Tr}$ .

Таким образом,  $\text{POIm}_3$ , хотя и обладает пониженной по сравнению с  $\text{POImCl}_2$  и  $\text{POIm}_2\text{Cl}$  реакционной способностью, также является достаточно эффективным фосфорилирующим реагентом и может быть использован для введения фосфатного остатка в 3'-положение нуклеозида. Более того, использование  $\text{POIm}_3$  в качестве фосфорилирующего агента не требует применения низких температур, что необходимо при работе с хлор-окисью фосфора [7]. Вероятно, увеличивая время фосфорилирования,

Таблица 1

Соотношение интенсивностей сигналов в спектре  $^{31}\text{P}$ -ЯМР смесей  $\text{POCl}_3$  и имидазола в пиридине при различных избытках имидазола

Соединение	Химический сдвиг, м.д.	Интенсивность сигнала (%) при соотношении $\text{POCl}_3$ — имидазол		
		1:1	1:2	1:3,2
$\text{POCl}_3$	-3,2	24	—	—
$\text{POImCl}_2$	-0,9	57	24	—
$\text{POIm}_2\text{Cl}$	+5,8	19	49	—
$\text{POIm}_3$	+16,3	—	27	100

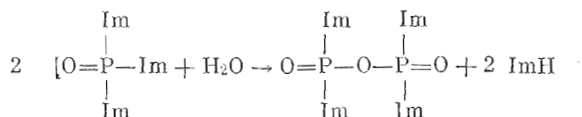
Таблица 2

Состав реакционной смеси при взаимодействии  $d(\text{MeOTr})\text{T}$  (0,4 М) и  $\text{POImCl}_2$  (0,25 М),  $\text{POIm}_2\text{Cl}$  (0,5 М) и  $\text{POIm}_3$  (0,25 М) через 2 мин от начала реакции

Соединение	Химический сдвиг, м.д.	$^{31}\text{P}$ , %	
		исходная фосфорилирующая смесь	реакционная смесь через 2 мин после начала реакции
$\text{POImCl}_2$	-0,84	25	12
$\text{POIm}_2\text{Cl}$	+5,8	50	25
$\text{POIm}_3$	+16,3	25	25
$d(\text{MeOTr})\text{T} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P} - \text{Im} \\   \\ \text{Cl} \end{array}$	+1,0	—	13
$d(\text{MeOTr})\text{T} \begin{array}{c} \text{O} \\ \parallel \\ \text{P} - \text{Im} \\   \\ \text{Im} \end{array}$	+11,3	—	25

Последнее следует из того, что замена  $\text{OH}$ -группы на атом хлора в фосфорной кислоте приводит к сдвигу сигнала в слабое поле [3], а введение остатка имидазола — к сдвигу в сильное поле [4]. Действительно, в смесях с различным соотношением  $\text{POCl}_3$  и  $\text{ImH}$  в пиридине мы обнаружили присутствие ожидаемых имидазолидов (табл. 1).

Получение в реакционной смеси  $\text{POIm}_3$  в качестве единственного продукта достигается только при полном отсутствии влаги. При наличии следов влаги в растворе образуется до 20%  $\text{P}^1\text{P}^2$ -тетраимидазолидпирофосфата с  $\delta$  +22,8 м. д. Количественное превращение по схеме



наблюдалось при обработке  $\text{POIm}_3$  0,5 экв. воды.

Как видно из табл. 1, при взаимодействии эквимольных количеств  $\text{ImH}$  и  $\text{POCl}_3$  в пиридине  $\text{POImCl}_2$  не является единственным продуктом реакции, как предполагалось ранее [1, 2]; наряду с ним реакционная смесь содержит  $\text{POIm}_2\text{Cl}$  и  $\text{POCl}_3$ . Очевидно, это обстоятельство может быть причиной побочных процессов при использовании такой смеси в качестве фосфорилирующего агента и объясняет необходимость проведения фосфорилирования при низких температурах [5, 6].

Для сравнения реакционной способности исследуемых имидазольных производных в реакции фосфорилирования 3'-оксигруппы нуклеозида

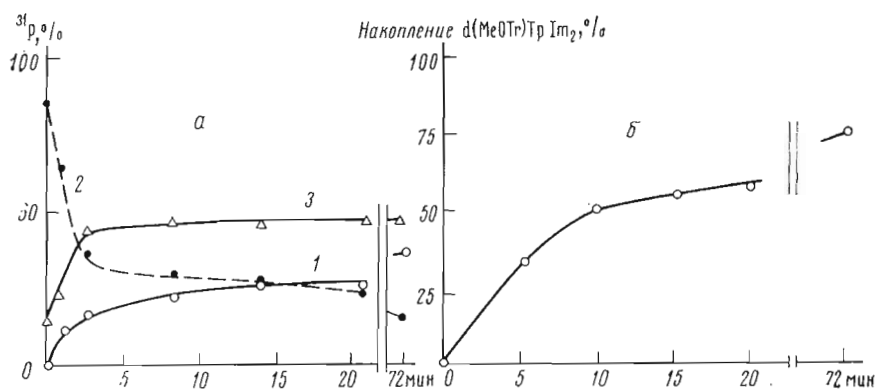


Рис. 1. *a* — кинетические кривые содержания компонентов в реакционной смеси при взаимодействии  $d(\text{MeOTr})\text{T}$  (0,15 M) и  $\text{POIm}_3$  (1 M) в пиридине ( $30^\circ$ ): 1 —  $d(\text{MeOTr})\text{TrIm}_2$ ; 2 —  $\text{POIm}_3$ ; 3 —  $(\text{POIm}_2)_2\text{O}$ ; *b* — зависимость накопления  $d(\text{MeOTr})\text{TrIm}_2$  от времени (определено подитенсивности соответствующего сигнала в  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектре)

$d(\text{MeOTr})\text{T}$  последний обрабатали 2,5 экв. смеси, содержащей  $\text{POImCl}_2$ ,  $\text{POIm}_2\text{Cl}$  и  $\text{POIm}_3$  в соотношении 1 : 2 : 1 (образуется при смешивании  $\text{POCl}_3$  и  $\text{ImH}$  в соотношении 1 : 2; см. табл. 1). В спектре  $^{31}\text{P}$ -ЯМР, записанном через 2 мин после начала реакции, зарегистрировано уменьшение интенсивности сигналов  $\text{POImCl}_2$  и  $\text{POIm}_2\text{Cl}$  и появление новых сигналов с  $\delta +1$  и  $+11,3$  м. д. Дальнейших изменений спектра не происходит. Суммарная интенсивность этих сигналов составляет  $\sim 40\%$  общей интенсивности, что соответствует превращению производных фосфорной кислоты в количестве, эквивалентном количеству нуклеозида. Поскольку реагируют только производные, содержащие атомы Cl, можно полагать, что происходит замещение именно атома хлора и наблюдаемые продукты взаимодействия представляют собой эфиры метокситритилтимидина и соответственно имидазолхлорфосфорной и димидазолфосфорной кислот. В соответствии с указанными выше закономерностями в химических сдвигах сигнал с  $\delta +1$  м. д. следует отнести к  $d(\text{MeOTr})\text{TrImCl}$ , а сигнал с  $\delta +11,3$  м. д. — к  $d(\text{MeOTr})\text{TrIm}_2$ .

Сопоставление убыли интенсивности сигналов исходных соединений и интенсивности сигналов продуктов реакции полностью согласуется с этим отношением (табл. 2).

Таким образом, можно заключить, что смешанные хлоримидазолпроизводные фосфорной кислоты практически мгновенно и количественно реагируют по оксигруппе нуклеозида.

$\text{POIm}_3$  взаимодействует с нуклеозидом значительно медленнее. Для детального исследования этого взаимодействия к  $d(\text{MeOTr})\text{T}$  добавляли 1,7 экв.  $\text{POIm}_3$ . Уже через 2 мин ( $30^\circ$ ) в спектре реакционной смеси регистрируется сигнал с  $\delta +11,3$  м. д., т. е. начинает накапливаться  $d(\text{MeOTr})\text{TrIm}_2$ . Через 1,2 ч выход этого соединения составляет 76%. На рис. 1 представлена кинетика изменения соотношения компонентов этой реакционной смеси.

Анализ реакционной смеси после разложения водой методом БХ и электрофореза показывает образование  $d(\text{MeOTr})\text{Tr}$ .

Таким образом,  $\text{POIm}_3$ , хотя и обладает пониженной по сравнению с  $\text{POImCl}_2$  и  $\text{POIm}_2\text{Cl}$  реакционной способностью, также является достаточно эффективным фосфорилирующим реагентом и может быть использован для введения фосфатного остатка в 3'-положение нуклеозида. Более того, использование  $\text{POIm}_3$  в качестве фосфорилирующего агента не требует применения низких температур, что необходимо при работе с хлорокисью фосфора [7]. Вероятно, увеличивая время фосфорилирования,

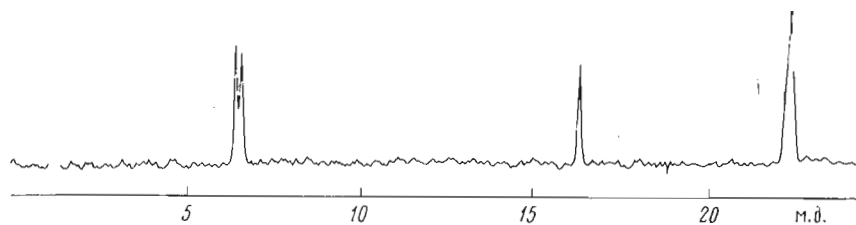


Рис. 2. Спектр  $^{31}\text{P}$ -ЯМР реакционной смеси при взаимодействии  $d(\text{MeOTr})\text{TrT}(\text{Ac})$  (0,15 M) и  $\text{POIm}_3$  (1 M) при  $30^\circ$

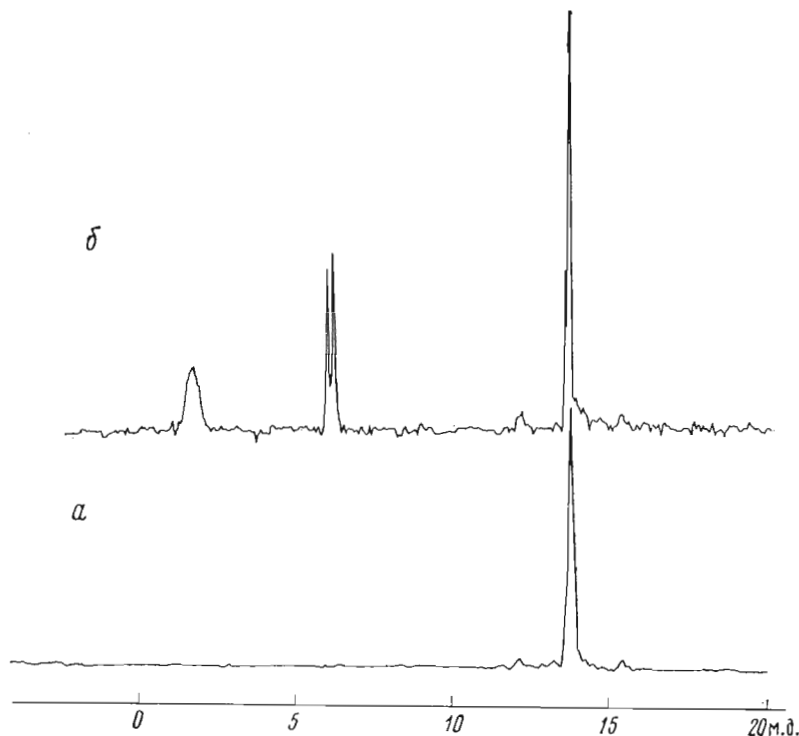
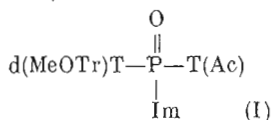


Рис. 3. Спектры  $^{31}\text{P}$ -ЯМР реакционных смесей: *а* — при взаимодействии  $d(\text{MeOTr})\text{TrT}(\text{Ac})$  (0,15 M) и ТПС (0,33 M); *б* — при взаимодействии тетразамещенного пирофосфата, полученного из  $d(\text{MeOTr})\text{TrT}(\text{Ac})$ , с избытком имидазола

можно будет снизить избыток фосфорилирующего агента. Это облегчит выделение метокситритилсодержащих олигонуклеотидных блоков из реакционной смеси методом экстракции органическими растворителями.

Чтобы использовать  $\text{POIm}_3$  для фосфорилирования олигонуклеотидов, нужно было установить, как действует этот реагент на фосфодиэфирные группы. С этой целью защищенный по обеим оксигруппам динуклеозидфосфат  $d(\text{MeOTr})\text{TrT}(\text{Ac})$  был обработан двумя эквивалентами  $\text{POIm}_3$ .

В  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектре реакционной смеси, записанном через 2 мин после начала реакции, полностью отсутствует сигнал исходной фосфодиэфирной группы ( $\delta +2,25$  м. д.) и появляются два сигнала с  $\delta +6,7$  м. д. (рис. 2), соответствующие, по нашему предположению, диастереомерным формам имидазольного производного динуклеозидфосфата (I), содержащего асимметрический атом фосфора [8, 9].



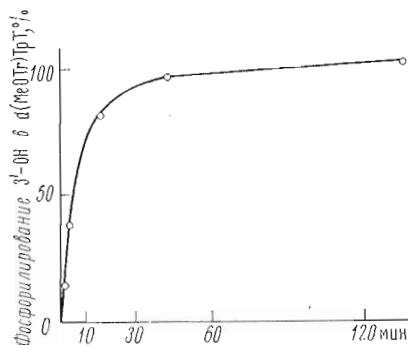
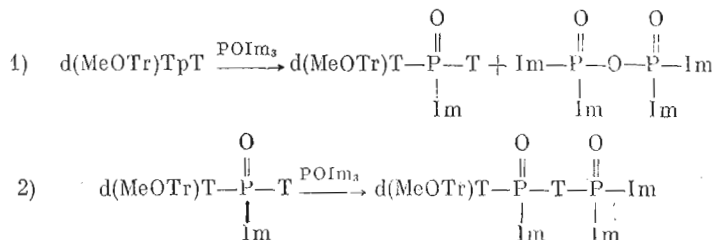


Рис. 4. Фосфорилирование 3'-ОН-группы в d(MeOTr)TrT при действии 7-кратного избытка POIm<sub>3</sub> при 30°

производного динуклеозидфосфата может служить превращение последнего в исходный динуклеозидфосфат d(MeOTr)TrT(Ас) в результате разложения реакционной смеси водой (анализ продуктов гидролиза проведен методами ТСХ, БХ и электрофореза).

Обработка фосфорилтриимидазolidом динуклеозидфосфата d(MeOTr)·TrT со свободной 3'-оксигруппой мгновенно приводит к появлению в спектре <sup>31</sup>P-ЯМР реакционной смеси двух близко расположенных сигналов с центром при +6,5 м. д., а при дальнейшем выдерживании идет накопление соединения с сигналом при +11,5 м. д., который по аналогии с данными, полученными для d(MeOTr)Т, может быть отнесен к сигналу 3'-концевой диимидазolidфосфатной группы.

Таким образом, фосфорилирование динуклеозидфосфата протекает в две стадии:



Этот результат, во-первых, вызывает необходимость использования избытка POIm<sub>3</sub>, так как часть его расходуется на взаимодействие с межнауклеотидным фосфатом; во-вторых, позволяет говорить о «блокировании» межнауклеотидного фосфата, которое может быть в дальнейшем использовано на стадии олигонуклеотидного синтеза.

Осуществляемое на второй стадии реакции фосфорилирование свободной 3'-гидроксильной группы d(MeOTr)TrT протекает с высокой эффективностью. Количественное превращение в 3'-фосфатное производное контролировалось как методом ЯМР-спектроскопии (рис. 4), так и ТСХ и БХ.

### Экспериментальная часть

В работе использованы 5'-О-монометокситритилтимидин, 5'-О-монометокситритил-3'-О-ацетил-тимидилил-(3' — 5')-тимидин [11], 5'-О-монометокситритилтимидилил-(3' — 5')-тимидин [12]. Фосфорилхлоримидазolidы получали, действуя имидазolidом на 1 М раствор POCl<sub>3</sub> в абс.

пиридине. Реакции проводили в пиридине, содержащем не более 0,05%  $H_2O$ , который хранили над молекулярными ситами типа 4А.

$POIm_3$  получали смешиванием равных объемов 6 М раствора имидазола и 2 М раствора  $POCl_3$  в абс. пиридине. Смесь выдерживали 2 ч при  $0^\circ$ , отделяли выпавший осадок хлоргидрата пиридина фильтрованием; раствор содержит  $POIm_3$  в концентрации 1 М.

В отдельном опыте пиридиновый раствор  $POIm_3$  был упарен на ротационном испарителе для удаления пиридина, остаток упарили с абс. бензолом ( $5 \times 50$  мл) и с абс. ТГФ ( $10 \times 50$  мл). Для полученного порошка  $POIm_3$  определена температура плавления  $133-137^\circ$  (литературные данные [13]: т. пл.  $135-137^\circ$ ).

БХ осуществляли на бумаге FN-1 в системе этанол — 1 М ацетат аммония, рН 7,5 (7 : 3). Значения  $R_f$  для  $dPrT$ ,  $dTrT$  и  $dTrTr$  составляют 0,4; 0,6 и 0,3 соответственно.

ТСХ проводили на пластинке «Silufol» в системе ацетонитрил — вода (10 : 1).  $R_f$  для  $d(MeOTr)T$ ,  $d(MeOTr)TrT$ ,  $d(MeOTr)TrT(Ac)$  и  $d(MeOTr)TrTr$  — 0,75; 0,53; 0,65 и 0,38.

Спектры  $^{31}P$ -ЯМР снимали на спектрометре НХ-90 с фурье-преобразованием на ЭВМ В-NC12 («Bruker-Physic AG», ФРГ) на частоте 34,43 МГц. Химические сдвиги приведены в м. д. относительно 85%-ной  $H_3PO_4$ . Для стабилизации резонансных условий использовали  $D_2O$  в качестве внешнего стандарта. Спектры записывали после 100—500 накоплений интерферограммы и последующего фурье-преобразования. Время накопления одной интерферограммы 0,7—0,8 с. Количественную оценку результатов проводили по интегральным кривым, принимая за 100% сумму интегралов по всему спектру. Точность интегрирования  $\pm 10\%$ . Спектры сняты с гетероядерным подавлением спин-спиновой связи  $^{31}P - \{^1H\}$ . Диаметр используемой ампулы 10 мм, объем реакционной смеси 1,5 мл. Реакцию проводили непосредственно в ампуле при  $30^\circ$ . Концентрация  $^{31}P$  во всех экспериментах 0,15 М.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Буданов М. В., Потапов В. К., Шабарова З. А., Прокофьев М. А. (1975) Докл. АН СССР, 220, № 4, 841—843.
2. Баканова В. А., Сергеева Н. Ф., Джапаридзе Н. Ш., Смирнов В. Д., Соколова Н. И., Шабарова З. А. (1975) Биоорганич. химия, 6, 774—777.
3. Grutchfield M. M., Dungan H. G. (eds.) (1967) Topics in Phosphorus Chemistry, v. 5, N. Y.—London—Sydney, Interscience publishers.
4. Bock J. L., Sheard B. (1975) Biochem. Biophys. Res. Commun., 66, 24—30.
5. Jashihawa M., Kato T. (1967) Bull. Chem. Soc. Japan, 40, 2849.
6. Tahinishiya V., Kato T. (1965) Патент 6512718, С. А., 63, 14966g.
7. Sowa D., Ouchi S. (1975) Bull. Chem. Soc. Japan, 48 (7), 2084—2090.
8. Зарытова В. Ф., Кнорре Д. Г., Лебедев А. В., Левина А. С., Резвухин А. И. (1975) Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим. н., вып. 2, 139—148.
9. Лебедев А. В., Резвухин А. И. (1975) Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим. н., вып. 2, 149—153.
10. Зарытова В. Ф., Кнорре Д. Г., Лебедев А. В., Левина А. С., Резвухин А. И. (1975) Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим. н., № 7, вып. 3, 126—131.
11. Büchi H., Khorana H. G. (1972) J. Mol. Biol., 72, 251—288.
12. Agarwal K. L., Kumar A., Khorana H. G. (1972) J. Mol. Biol., 72, 351—373.
13. Cramer F., Schaller H., Staat H. A. (1961) Chem. Ber., 94, 1612—1621.

Поступила в редакцию  
19.I.1976

После переработки  
20.II.1976



INTERACTION OF DEOXYRIBONUCLEOSIDES AND DINUCLEOSIDE PHOSPHATES  
WITH PHOSPHORYL CHLOROIMIDAZOLIDES AND PHOSPHORYL  
TRIIMIDAZOLIDE IN PYRIDINE SOLUTION

SERGEEVA N. F., SMIRNOV V. D., SHABAROVA Z. A.,  
PROKOPIEV M. A., ZARYTOVA V. F\*, LEBEDEV A. V\*,  
KNORRE D. G.\*

*M. V. Lomonosov State University, Moscow; \* Institute of Organic  
Chemistry, Siberian Branch of the Academy of Sciences  
of the USSR, Novosibirsk*

With the use of  $^{31}\text{P}$ -NMR spectroscopy the interaction of phosphorus oxychloride with imidazole has been investigated. It has been found that phosphoryl chloroimidazolides and phosphoryl triimidazolidide are formed, all of them being active phosphorylating agents for a nucleoside 3'-hydroxy group. The reaction of phosphoryl triimidazolidide with dinucleoside phosphate  $d(\text{MeOTr})\text{TpT}$  proceeds in two stages: at first, phosphodiester bond instantaneously converts into phosphoimidazolidediester one, then 3'-hydroxy group is phosphorylated. The hydrolysis of the phosphoamidate bonds results in 5'-protected dinucleotide,  $d(\text{MeOTr})\text{TpTp}$ , formation.

---