



УДК 547.963.3+577.155.2

## ХИМИЧЕСКИЕ РИБОНУКЛЕАЗЫ. 3. СИНТЕЗ ОРГАНИЧЕСКИХ КАТАЛИЗАТОРОВ ГИДРОЛИЗА ФОСФОДИЭФИРНЫХ СВЯЗЕЙ НА ОСНОВЕ ЧЕТВЕРТИЧНЫХ СОЛЕЙ 1,4-ДИАЗАБИЦИКЛО[2.2.2]ОКТАНА

© 2000 г. Д. А. Коневец<sup>#</sup>, И. Э. Бекк<sup>\*</sup>, В. Н. Сильников, М. А. Зенкова, Г. В. ШишкинНовосибирский институт биоорганической химии СО РАН,  
630090, Новосибирск, просп. Акад. Лаврентьева, 8;<sup>\*</sup> Институт катализа им. Г.К. Борескова СО РАН, Новосибирск

Поступила в редакцию 29.03.2000 г. Принята к печати 24.05.2000 г.

Синтезирован ряд высокоэффективных катализаторов гидролитического расщепления фосфодиэфирных связей в рибонуклеиновых кислотах на основе имидазола и бисчетвертичных солей 1,4-дизабиикло[2.2.2]октана (*nDm*-серия, где *n* – число положительных зарядов при нейтральных pH, *m* – числовой код каталитически активного фрагмента: 1 – гистамин, 2 – метиловый эфир гистидина). Предложена универсальная методика синтеза химических рибонуклеаз, позволяющая варьировать как число положительных зарядов в их РНК-связывающем домене, так и каталитический центр. На примере гидролиза в физиологических условиях *in vitro*-транскрипта тРНК<sup>Lys</sup> из митохондрий человека показано, что скорость расщепления РНК *nDm*-конъюгатами возрастает примерно в 30 раз с увеличением числа положительных зарядов от 2 до 4.

*Ключевые слова:* искусственные рибонуклеазы; поликатионы; РНК, расщепление, катализ.

### ВВЕДЕНИЕ

Соединения, способные расщеплять фосфодиэфирные связи в РНК в физиологических условиях, представляют интерес для решения ряда фундаментальных и прикладных задач молекулярной биологии. Конструирование таких соединений может открыть новые возможности создания конъюгатов антисмысловых олигонуклеотидов для молекулярно-биологического и биомедицинского применения [2]. С другой стороны, разработка синтетических конструкций, способных с высокой эффективностью гидролитически расщеплять РНК, и изучение их свойств поможет выявить структурные и динамические факторы, обеспечивающие высокую эффективность катализа, осуществляемого природными ферментами. Исследование каталитических свойств конструкций, несущих функциональные группы, моделирующие активные центры РНК-гидролизующих ферментов, дает возможность изучить механизм действия отдельных каталитически активных группировок, а также оценить влияние белковой структуры, создающей специфическое окружение субстрата. Варьирование структуры таких конструкций и ее физико-химическое исследова-

ние открывают путь к установлению механизма реакций каталитического расщепления РНК.

Ранее неоднократно сообщалось о синтезе соединений, моделирующих действие природных РНК-гидролизующих ферментов [3, 4]. В основном были предложены одиночные конструкции, содержащие различные группы как в РНК-связывающем, так и в РНК-гидролизующем центрах. Однако в этих работах использовались разные РНК или РНК-имитирующие субстраты и разные методы оценки хода гидролиза. Систематические исследования, выполненные в сопоставимых условиях, не проводились. Поэтому выявить какие-либо корреляции между строением синтетических рибонуклеаз и их активностью не представляется возможным.

Настоящая работа посвящена разработке универсального подхода к синтезу искусственных рибонуклеаз, содержащих РНК-связывающий фрагмент поликатионной природы, позволяющего в широких пределах варьировать структурные параметры как РНК-связывающего, так и РНК-гидролизующего центров синтетических конструкций.

### РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

*Конструирование химических рибонуклеаз. При планировании стратегии синтеза целевых химических рибонуклеаз мы стремились разрабо-*

Сообщение 2 см. [1].

Сокращения: Pht – фталоил; Im – имидазолил.

<sup>#</sup> Автор для переписки (тел.: (3832) 396229; e-mail: chek@niboch.nsc.ru).

тать достаточно универсальный метод, который позволил бы легко получать поликатионные соединения с любым числом зарядов, содержащие природные аминокислоты, входящие в состав активных центров природных РНК-гидролизующих ферментов. В качестве катионного фрагмента нами были выбраны бисчетвертичные соли 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана, обладающие высоким сродством к фосфат-анионам [5] и уже показавшие свою эффективность в ряде предложенных ранее синтетических рибонуклеаз [6].

Поставленная задача могла быть решена путем выполнения последовательных реакций алкилирования, что привело бы к образованию линейной молекулы, состоящей из кватернизованных колец 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана, соединенных полиметиленовыми фрагментами. Несмотря на кажущуюся простоту данного подхода, при его реализации неизбежны значительные экспериментальные трудности: когда число четвертичных аммониевых групп в молекуле полимера превысит два, химические и физические свойства исходных реагентов и продуктов реакций алкилирования станут практически идентичными, что сделает очень сложной процедуру их разделения.

В то же время поставленная задача во многом схожа с синтезом пептидов – в обоих случаях необходимо получить полимерную молекулу, состоящую из химически сходных мономеров. В связи с этим логично было использовать стандартные, хорошо разработанные в рамках пептидного синтеза приемы конденсации. В качестве наиболее пригодного для наших целей был выбран метод активированных эфиров, предполагающий использование “стандартного” мономера.

Такой мономер должен был представлять собой аминокислоту, содержащую бискватернизованный 1,4-диазабицикло[2.2.2]октан, аминогруппа которой защищена, а карбоксильная группа подготовлена к конденсации путем превращения ее в активированный эфир. Однако при получении такого мономера мы столкнулись с серьезными экспериментальными трудностями.

Единственным соединением такого типа, которое нам удалось синтезировать, оказался 1-(2-фталимидоэтил)-4-(карб-4-нитрофеноксид)метил-1,4-диазониабцикло[2.2.2]октана дибромид (VI) (схема). Взаимодействие свободного 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана (I) с *N*-(2-бромэтил)-фталимидом (II) приводило к образованию 1-(2-фталимидоэтил)-1-азония-4-азабицикло[2.2.2]октана бромида (III) (стадия А). При алкилировании полученного полупродукта 4-нитрофениловым эфиром бромуксусной кислоты (V) по второму атому азота образовывался целевой продукт (VI) (стадия Б). Следует отметить, что для достижения высокого выхода были необходимы достаточно жесткие условия и длительное время проведения реакции.

Аминолиз сложного эфира (VI) имидазолсодержащими аминами, в частности гистамином, приводящий к 1-(2-фталимидоэтил)-4-[*N*-(2-имидазол-4-ил)-этил]карбамил]метил-1,4-диазониабцикло[2.2.2]октана дибромиду (VII), также не вызывал затруднений (стадия В). Однако при попытке снятия фталоильной защитной группы с соединения (VII) с помощью гидразингидрата в этаноле происходила глубокая деструкция молекулы – в спектрах ЯМР продуктов реакции исчезали характерные группы сигналов, относящиеся к кольцу 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана, и наблюдались сигналы сложной смеси неидентифицированных соединений.

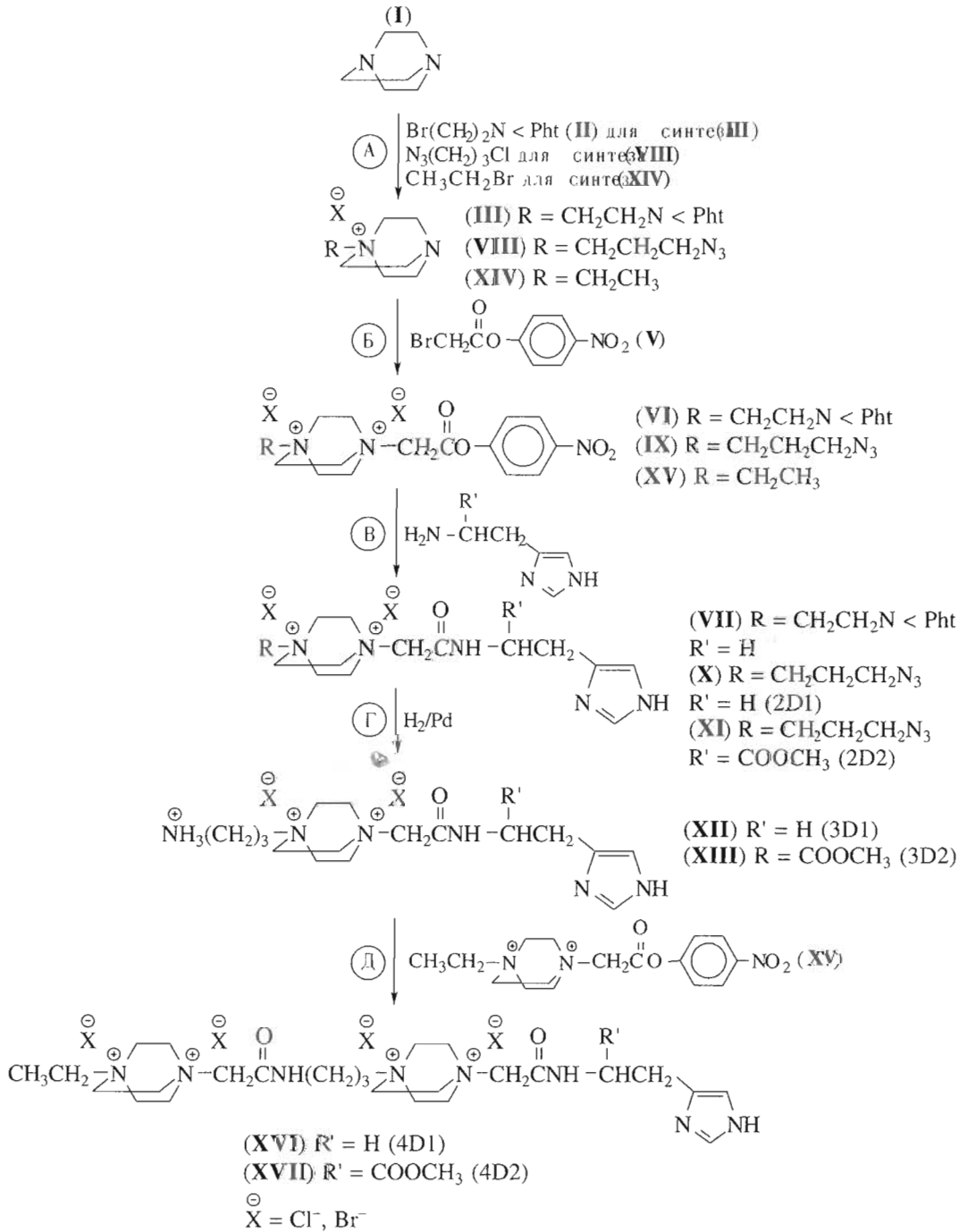
Заменить фталоильную защитную группу на более легко удаляемую *трет*-бутоксикарбонильную не удалось. При попытке ацилирования 1-(2-аминоэтил)-1-азония-4-азабицикло[2.2.2]октана (IV) (полученного из соединения (III) обработкой 48% водным HBr, см. “Эксперимент. часть”) с помощью ди-*трет*-бутилпирокарбоната происходило разрушение бицикла, что подтверждалось данными ЯМР.

В связи с вышеизложенным мы предприняли попытку использовать вместо защищенной аминогруппы в составе активированного мономера другую азотсодержащую группу, которая могла бы служить химическим предшественником аминогруппы. Такой группой могла бы быть нитрильная, амидная, нитро- или азидогруппа. Наиболее пригодной для этой цели нам представлялась азидогруппа: с одной стороны, в отличие от нитрогруппы, она может быть легко введена в молекулу, а с другой – может быть легко и в мягких условиях восстановлена до амина, в отличие от нитрильной и амидной групп.

При алкилировании 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана (I) неочищенным 1-азидо-3-хлорпропаном, получаемым при взаимодействии 1-бром-3-хлорпропана с азидом натрия, с высоким выходом образовывалась очень гигроскопичная кристаллическая моночетвертичная соль (VIII) (стадия А). Следует отметить, что присутствие даже следов влаги в реакционном растворе приводило к тому, что продукт реакции выделялся в виде масла, закристаллизовать которое не удавалось.

Соединение (VIII) легко алкилировалось по третичному атому азота эфиром бромуксусной кислоты (V) (стадия Б). Продукт реакции – бисчетвертичная соль 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана (IX), содержащая азидогруппу, и в то же время являющаяся активированным эфиром – представляла собой мономер, пригодный для создания пептидоподобных РНК-расщепляющих конструкций, несущих положительный заряд.

Сложноэфирная группа ключевого полупродукта (IX) легко подвергалась аминолизу имидазолсодержащими алифатическими аминами (ста-

Схема синтеза искусственных рибонуклеаз серии *nDm*.

дия В), приводящему к образованию соединений (X) и (XI), аналогичных по структуре ранее описанным нами конструкциям D1 и D2 [6], но не содержащих липофильной группировки.

Каталитическое гидрирование соединений (X) и (XI) (стадия Г) позволило получить дипептидоподобные соединения (XII) и (XIII). Катализатор Линдлара, как правило, применяемый для восстановления азидов [7], в данном случае оказался не-

эффективным. Однако использование значительно более активного катализатора – палладия на угле – позволило воспроизводимо, в мягких условиях и с высокими выходами получить необходимые амины.

Ацилирование аминов (XII) и (XIII) еще одной молекулой активированного эфира (IX) с последующим восстановлением азидогруппы – путь наращивания “олигопептидной” цепи, на С-конце



которой находится остаток имидазола. В настоящей работе, однако, рассматриваются лишь тримеры, имеющие в своем составе два кольца 1,4-дизабицикло[2.2.2]октана и один остаток имидазола. При синтезе химических рибонуклеаз (XVI) и (XVII) для ацилирования аминов (XII) и (XIII) был использован активированный эфир (XV) (стадия Д), специально приготовленный для введения в молекулу в качестве *N*-концевого остатка. Его синтез также иллюстрируется стадиями А (алкилирование этилбромидом) и Б.

Следует заметить, что заключительной операцией при выделении продуктов всех использованных в работе реакций пептидной конденсации является осаждение ацетоном. В ацетоне, однако, нерастворимы и исходные соединения, также являющиеся бисчетвертичными солями. Несмотря на то что соединения (VII), (X)–(XIII), (XVI) и (XVII) могут быть со значительными потерями перекристаллизованы, например, из больших количеств изопропанола, отделить исходные реагенты от продуктов этим методом невозможно. Чтобы данная проблема не возникала, условия проведения реакций были подобраны таким образом, при которых превращения проходили практически полностью. Степень протекания реакции контролировали с помощью <sup>1</sup>H-ЯМР. Выходы продуктов, таким образом, определяются лишь полнотой их осаждения.

Следует заметить, что моночетвертичные соли (III) и (VIII) не имеют четко выраженных температур плавления, а поличетвертичные соединения (VI), (VII), (IX)–(XIII), (XV)–(XVII) при нагревании выше 150–170°C разлагаются.

Для доказательства строения и чистоты полученных соединений в работе использованы <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР-, а также ИК-спектроскопия. Регистрация сигналов протонов при атомах азота амидных групп и сравнение их интенсивностей с интенсивностями сигналов других протонов молекулы служило доказательством образования продукта конденсации, тогда как отсутствие в спектрах ЯМР посторонних сигналов свидетельствовало о его чистоте. ИК-спектроскопия применялась для доказательства наличия в молекулах полученных соединений функциональных групп, которые не могут быть обнаружены с помощью <sup>1</sup>H- и <sup>13</sup>C-ЯМР.

При интерпретации ЯМР-спектров использована библиотека спектров Sadtler [8]. Анализ наложенных мультиплетов проводился путем разложения спектров на лоренцевы компоненты. ЯМР-спектры второго порядка анализировали методом эффективных ларморовых частот [9]. ИК-спектры интерпретировали на основании данной работы [10].

При описании ЯМР-спектров одинаковыми верхними индексами "a, b, c..." (в пределах одного спектра) отмечены сигналы химически подобных

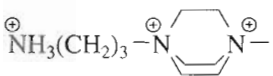
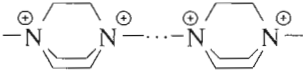
ядер, которые не могут быть однозначно отнесены в рамках используемого метода и, вследствие этого, их отнесение может быть обратным. Нижний индекс "псв" (псевдо) использован при описании КССВ и мультиплетности сигналов со структурой, напоминающей простые мультиплеты первого порядка, но в действительности являющихся более сложными мультиплетами второго порядка четырех–шестиспиновых систем, расчет всех истинных КССВ для которых на основе полученных экспериментальных данных невозможен. Например, такой переход от простых спектров первого порядка, наблюдающихся для 1,3-дизамещенных пропанов с небольшими заместителями (Cl, Br, N<sub>3</sub>, NH<sub>2</sub> и т.п.), к сложным мультиплетам второго порядка, характеризующих шестиспиновую систему AA'MM'XX', имел место при введении в молекулу такого объемного заместителя как 1,4-дизабицикло[2.2.2]октан. Тем не менее приведенные "псевдо"-КССВ мультиплетов, соответствующих сигналам различных групп химически эквивалентных протонов, взаимодействующих между собой, совпадают, как это имеет место в спектрах первого порядка, и могут быть использованы при интерпретации спектра, хотя и не отражают истинного взаимодействия ядер.

*Изучение гидролитической активности полученных соединений.* При исследовании гидролитической активности синтетических рибонуклеаз 2D1, 2D2, 3D1, 3D2, 4D1, 4D2 (см. схему) в качестве субстрата был использован 5'-<sup>32</sup>P-меченый *in vitro*-транскрипт тРНК<sup>Lys</sup> из митохондрий человека с точечной мутацией A9 → C (далее по тексту – тРНК KRW). Выбор в качестве мишени этой тРНК обусловлен рядом ее структурных особенностей и наличием литературных данных по расщеплению тРНК KRW различными рибонуклеазами как синтетическими, так и природными [11].

В настоящей работе мы приводим только данные по сопоставлению эффективности гидролитического расщепления тРНК KRW синтетическими рибонуклеазами в зависимости от их строения в фиксированных условиях, приведенных в "Эксперимент. части". Подробное описание экспериментов по гидролитическому расщеплению тРНК KRW синтетическими рибонуклеазами в различных условиях, а также данных по специфичности расщепления РНК выходит за рамки этой статьи и будет представлено отдельно.

*Зависимость эффективности гидролиза от строения и концентрации синтетических рибонуклеаз.* Все исследованные химические рибонуклеазы оказались гидролитически активны по отношению к фосфодиэфирным связям тРНК KRW в узком интервале концентраций. Для соединений 3Dm и 4Dm оптимальной оказалась концентрация 5 × 10<sup>-4</sup> M, так как при более высоких их концен-

Зависимость степени гидролиза (%) \* тРНК KRW от суммарного положительного заряда РНК-связывающего центра и структуры каталитического центра искусственных рибонуклеаз серии *nDm*. Условия гидролиза приведены в "Эксперимент. части"

| Структура РНК-связывающего центра<br>(суммарный заряд <i>n</i> )                          | Структура каталитического центра (тип группировки <i>m</i> )                             |  |
|---|--|--|
|   | <br>(1) | <br>(2) |
| <br>(+2) | 0.2  | 0.5  |
| <br>(+3) | 4  | 9  |
| <br>(+4) | 6  | 13   |

\* Определяется как отношение суммарной радиоактивности продуктов расщепления тРНК KRW (12 ч) к общей радиоактивности пробы.

трациях наблюдалась агрегация РНК. В то же время при концентрациях ниже, чем  $1 \times 10^{-4}$  М гидролиз РНК не происходил. В случае конструкций 2Dm максимальная скорость гидролиза наблюдалась при концентрации  $5 \times 10^{-3}$  М, а при концентрациях ниже, чем  $1 \times 10^{-3}$  М расщепление РНК происходило крайне медленно. Концентрационная зависимость для исследованных соединений *nDm*-серии отличалась от таковой для описанных ранее синтетических рибонуклеаз на основе одного остатка 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана. Для этих соединений также наблюдалась колоколообразная зависимость скорости гидролиза РНК-субстрата от концентрации, однако оптимум находился в области  $1 \times 10^{-4}$  М, что значительно ниже, чем в случае представителей соединений D-серии [12].

При сходной специфичности действия химических рибонуклеазы серии *nDm* значительно различаются по скорости гидролиза РНК-субстрата. Наши данные однозначно свидетельствуют о существовании корреляции между числом положительных зарядов в синтетических рибонуклеазах и скоростью гидролиза РНК. Мы наблюдали примерно 30-кратное увеличение скорости гидролиза в рядах 2D1 < 3D1 < 4D1 и 2D2 < 3D2 < 4D2 (таблица). При этом все соединения *nD2* гидролизуют РНК-субстрат приблизительно в 2 раза быстрее, чем соответствующие *nD1*. Это хорошо согласуется с ранее полученными результатами для других синтетических рибонуклеаз, где конструкции,

содержащие в РНК-гидролизующем центре остатки гистидина (или его метилового эфира) всегда проявляли большую активность, нежели соединения, несущие остаток гистамина [6, 12, 13].

Таким образом можно утверждать, что строение РНК-связывающего центра оказывает существенное влияние на скорость деполимеризации РНК: имеет место примерно 30-кратное увеличение скорости гидролиза РНК при изменении числа положительных зарядов от 2 до 4 в РНК-связывающем домене. При замене остатка гистамина на метиловый эфир гистидина в каталитическом домене скорость расщепления РНК возрастает примерно в 2 раза (при одном и том же заряде).

### ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе использованы *N*-(2-бромэтил)фталид, гистамин, метиловый эфир *L*-гистидина, азид натрия и имидазол (Fluka, Швейцария), остальные реактивы – отечественного производства квалификации "х. ч." и "ос. ч.", очищенные, в случае необходимости, по стандартным методикам.

В качестве катализатора гидрирования был использован 10% палладий на угле марки "Сибунит" [14].

Во всех биохимических экспериментах была использована вода, очищенная с помощью установки Milli-Q (Millipore, США).



ИК-спектры снимали на спектрометре Specord M-80 (Karl Zeiss Iena, Германия) в таблетках KBr; в представленных спектрах приведены только наиболее характеристичные полосы поглощения. Положение полос поглощения в ИК-спектрах указано в волновых числах ( $\text{см}^{-1}$ ).

Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре AM-400 (Bruker, Германия) при 400 МГц для  $^1\text{H}$  и 100 МГц для  $^{13}\text{C}$ , соответственно. Все КССВ приведены в герцах, химические сдвиги – в миллионных долях в шкале  $\delta$ . Спектры  $^{13}\text{C}$  записаны с применением программы J-модулированного спинного эха и, в случае необходимости, без развязки от протонов. В качестве растворителя использовали  $\text{DMSO-}d_6$  (99% D, Aldrich, США), содержащий тетраметилсилан в качестве внутреннего стандарта.

**1-(2-Фталимидоэтил)-1-азония-4-азабицикло[2.2.2]октана бромид (III).** К раствору 2.24 г (0.02 моль) 1,4-диазабицикло[2.2.2]октана (I) в минимальном объеме ацетона при перемешивании приливали раствор 2.54 г (0.01 моль) N-(2-бромэтил)фталимида (II) в минимальном объеме ацетона. Реакционную смесь выдерживали при 37°C в течение 24 ч, выпавший осадок отфильтровывали, промывали ацетоном и сушили в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Получали белый мелкокристаллический порошок. Выход 3.4 г (93%).  $^1\text{H}$ -ЯМР: 3.05 (т, 6H,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ,  $J$  7.4); 3.42 (т, 6H,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ,  $J$  7.4); 3.53 ( $\tau_{\text{псв}}$ , 2H,  $\text{PhtNCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ,  $J_{\text{псв}}$  7.2); 4.05 ( $\tau_{\text{псв}}$ , 2H,  $\text{PhtNCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ,  $J_{\text{псв}}$  7.2); 7.90 (м, 4H, Pht).  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 31.28 (1C,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{PhtNCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ); 44.67 (3C,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ); 51.60 (3C,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ); 59.76 (1C,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{PhtNCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ); 123.19 (2C, CH, C2, C5 Pht); 131.61 (2C, C, C1, C6 Pht); 134.56 (2C, CH, C3, C4 Pht); 167.41 (2C, C,  $\text{Ph}(\text{CO})_2\text{N}$ ).

**1-(2-Аминоэтил)-1-азония-4-азабицикло[2.2.2]октана бромид дигидробромид (IV).** 1.83 г (5 ммоль) моночетвертичной соли (III) растворяли в 10 мл 48% водного HBr и выдерживали при 80°C в течение 10 ч. Реакционную смесь упаривали досуха и повторяли процедуру с новой порцией HBr. Полученный раствор упаривали до начала кристаллизации фталевой кислоты, которую отфильтровывали после охлаждения до комнатной температуры. Раствор упаривали до начала кристаллизации продукта, который осаждали десятью объемами ацетона. Выпавший осадок соединения (IV) быстро отфильтровывали, многократно промывали ацетоном и сушили в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Получали белый мелкокристаллический порошок. Выход 1.81 г (91%).  $^1\text{H}$ -ЯМР: 3.40 (уширенный сигнал, мультиплетная структура не просматривается, 2H,  $^+\text{NH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ); 3.66 (т, 6H,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ,  $J$  7.2); 3.75 (м, А-часть спектра

спиновой системы AA'XX', 2H,  $^+\text{NH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ,  $J_{\text{AX}}$  7.6); 3.94 (т, 6H,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ,  $J$  7.2); 8.29 (уширенный сигнал, мультиплетная структура не просматривается, 3H,  $^+\text{NH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ).  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 31.87 (1C,  $\text{CH}_2$ ,  $^+\text{NH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ); 43.26 (3C,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ); 50.74 (3C,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ); 59.06 (1C,  $\text{CH}_2$ ,  $^+\text{NH}_3\text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ).

**1-(2-Фталимидоэтил)-4-(4-нитрофеноксикарбоксиметил)-1,4-дiazониабицикло[2.2.2]октана дибромид (VI).** Суспензию 2.2 г (6 ммоль) моночетвертичной соли (III) в растворе 1.95 г (7.5 ммоль) 4-нитрофенилового эфира бромуксусной кислоты (V) [15] в 30 мл ацетона интенсивно встряхивали в течение 36 ч при 45°C. Осадок отфильтровывали, промывали ацетоном и сушили в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Получали белый мелкокристаллический порошок. Выход 3.64 г (97%).  $^1\text{H}$ -ЯМР: 3.14 ( $\tau_{\text{псв}}$ , 2H,  $\text{PhtNCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+$ ,  $J_{\text{псв}}$  7.3); 3.87 ( $\tau_{\text{псв}}$ , 2H,  $\text{PhtNCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+$ ,  $J_{\text{псв}}$  7.3); 4.05<sup>a</sup> (т, 6H,  $\text{PhtN}(\text{CH}_2)_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+$ ,  $J$  7.2); 4.22<sup>a</sup> (т, 6H,  $\text{PhtN}(\text{CH}_2)_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+$ ,  $J$  7.2); 5.17 (с, 2H,  $^+\text{NCH}_2\text{COO}$ ); 7.63 ( $\delta_{\text{псв}}$ , 2H, H2, H6 Ph,  $J_{\text{псв}}$  9.1); 7.90 (м, 4H, Pht); 8.399 ( $\delta_{\text{псв}}$ , 2H, H3, H5 Ph,  $J_{\text{псв}}$  9.1).  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 30.52 (1C,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{PhtNCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+$ ); 50.39<sup>a</sup> (3C,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{PhtN}(\text{CH}_2)_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+$ ); 51.07<sup>a</sup> (3C,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{PhtN}(\text{CH}_2)_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+$ ); 60.20<sup>b</sup> (1C,  $\text{CH}_2$ ,  $\text{PhtNCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}$ ); 60.87<sup>b</sup> (1C,  $\text{CH}_2$ ,  $^+\text{NCH}_2\text{COO}$ ); 122.65<sup>c</sup> (2C, CH, C2, C5 Pht); 123.81<sup>c</sup> (2C, CH, C2, C6 Ph); 126.07 (2C, CH, C3, C5 Ph); 131.63 (2C, C, C1, C6 Pht); 135.17 (2C, CH, C3, C4 Pht); 145.62 (1C, C, C4 Ph); 153.76 (1C, C, C1 Ph); 162.21 (1C, C,  $^+\text{NCH}_2\text{COO}$ ); 167.37 (2C, C,  $\text{Ph}(\text{CO})_2\text{N}$ ).

**1-(2-Фталимидоэтил)-4-[N-(2-(имидазол-4-ил)-этил)карбаомилметил]-1,4-дiazониабицикло[2.2.2]октана бромид хлорид (VII).** Раствор 49 мг (0.44 ммоль) гистамина (свободного основания) и 45 мг (0.44 ммоль) триэтиламина в 2 мл DMF добавляли к раствору 250 мг (0.4 ммоль) активированного эфира (VI) в 10 мл DMF. Смесь выдерживали при 45°C в течение 72 ч и упаривали до объема 2 мл. Сырой продукт осаждали 20 мл ацетона и очищали переосаждением ацетоном из этанола. Сушили в вакууме над  $\text{P}_2\text{O}_5$ . Получали слабоокрашенное очень гигроскопичное аморфное вещество. Выход 103 мг (43%).  $^1\text{H}$ -ЯМР: 2.68 (т, 2H,  $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{Im}$ ,  $J$  6.9); 3.05 ( $\tau_{\text{псв}}$ , 2H,  $\text{PhtNCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+$ ,  $J_{\text{псв}}$  7.2); 3.36 (дт, 2H,  $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{Im}$ ,  $J_{\text{д}}$  5.3,  $J_{\text{т}}$  6.9); 3.84 ( $\tau_{\text{псв}}$ , 2H,  $\text{PhtNCH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+$ ,  $J_{\text{псв}}$  7.2); 3.95<sup>a</sup> (т, 6H,  $\text{PhtN}(\text{CH}_2)_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{CONH}$ ,  $J$  7.5); 4.11<sup>a</sup> (т, 6H,  $\text{PhtN}(\text{CH}_2)_2\text{N}^+(\text{CH}_2\text{CH}_2)_3\text{N}^+\text{CH}_2\text{CONH}$ ,  $J$  7.5); 4.57 (с, 2H,  $^+\text{NCH}_2\text{CONH}$ ); 6.75 (д, 1H, H5 Im,  $J$  1.0); 7.565 (д, 1H, H2 Im,  $J$  1.0); 7.91 (м, 4H, Pht); 8.87 (т,  $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{Im}$ ,  $J$  5.3).  $^{13}\text{C}$ -ЯМР: 26.58



(1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im); 30.75 (1C, CH<sub>2</sub>, PhNCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>); 40.61 (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im); 50.21<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, PhN(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH); 51.73<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, PhN(CH<sub>2</sub>)<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH); 61.31<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, PhNCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N); 62.87<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, NCH<sub>2</sub>CONH); 116.55 (1C, CH, C5 Im); 123.07 (2C, CH, C2, C5 Ph); 132.03 (2C, C, C1, C6 Ph); 135.29 (2C, CH, C3, C4 Ph); 135.91 (1C, C, C4 Im); 136.39 (1C, CH, C2 Im); 163.52 (1C, C, NCH<sub>2</sub>CONH); 166.98 (2C, C, Ph(CO)<sub>2</sub>N).

**1-(3-Азидопропил)-1-азония-4-азабицикло [2.2.2]-октана хлорид (VIII).** Суспензию 3.25 г (0.05 моль) азида натрия в смеси 8 мл DMF и 7.87 г (0.05 моль) 1-бром-3-хлорпропана интенсивно встряхивали в течение 48 ч при комнатной температуре, после чего разбавляли 30 мл ацетона и отфильтровывали выпавшие соли. Прозрачный раствор неочищенного 1-азидо-3-хлорпропана по каплям добавляли к раствору 6.73 г (0.06 моль) 1,4-дизабицикло[2.2.2]октана (I) в 50 мл ацетона. Смесь выдерживали при комнатной температуре. Осадок, образовавшийся в течение первых 30 мин, отбрасывали. Выпадающую в течение последующих 48 ч выдерживания соль (VIII) отфильтровывали, промывали ацетоном и сушили в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Получали очень гигроскопичные бесцветные кристаллы. Выход 10.1 г (87%). <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.98 (тт<sub>псв</sub>, 8.3, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J<sub>псв</sub> 7.0); 3.02 (т, 6H, N<sup>+</sup>(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N, J 7.5); 3.37 (т<sub>псв</sub>, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J<sub>псв</sub> 7.0); 3.44 (т, N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N, J 7.5); 3.45 (т<sub>псв</sub>, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J<sub>псв</sub> 8.3). <sup>13</sup>C-ЯМР: 21.08 (1C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 44.51 (3C, CH<sub>2</sub>, N<sup>+</sup>(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N); 47.83 (1C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 51.35 (3C, CH<sub>2</sub>, N<sup>+</sup>(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N); 60.49 (1C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>). ИК: 2120 (оч.с, ν<sub>асим</sub> N<sub>3</sub>); 1620 (ср.); 1465 (ср., δ CH<sub>2</sub>); 1265 (с, ν<sub>сим</sub> N<sub>3</sub>); 1105 (с, ν C-N); 1055 (с, ν C-N); 995 (ср.); 845 (с), 790 (ср.), 710 (ср., μ CH<sub>2</sub>).

**1-(3-Азидопропил)-4-[(4-нитрофенокси)карбоксиметил]-1,4-дiazониабицикло[2.2.2]октана бромид хлорид (IX).** Раствор 4.63 г (0.02 моль) соединения (VIII) и 6.24 г (0.024 моль) 4-нитрофенолового эфира бромуксусной кислоты (V) в 150 мл безводного ацетонитрила выдерживали при комнатной температуре в течение 15 ч. Образовавшийся осадок отфильтровывали, промывали ацетоном и сушили в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Получали белый кристаллический порошок. Выход 5.1 г (52%). <sup>1</sup>H-ЯМР: 2.02 (тт<sub>псв</sub>, 11.2, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J<sub>псв</sub> 6.8); 3.53 (т<sub>псв</sub>, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J<sub>псв</sub> 6.8); 3.60 (т<sub>псв</sub>, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J<sub>псв</sub> 11.2); 4.04<sup>a</sup> (т, 6H, N<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>COO, J 7.5); 4.23<sup>a</sup> (т, 6H, N<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>COO, J 7.5); 5.18 (с, 2H, NCH<sub>2</sub>COO); 7.62 (д<sub>псв</sub>, 2H, H2, H6 Ph, J<sub>псв</sub> 9.0); 8.39

(д<sub>псв</sub>, H3, H5 Ph, J<sub>псв</sub> 9.0). <sup>13</sup>C-ЯМР: 22.20 (1C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 48.32 (1C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 50.96<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>COO); 52.50<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>COO); 61.82<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 62.02<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, NCH<sub>2</sub>COO); 123.73 (2C, CH, C2, C6 Ph); 126.18 (2C, CH, C3, C5 Ph); 146.32 (1C, C, C4 Ph); 154.48 (1C, C, C1 Ph); 162.95 (1C, C, NCH<sub>2</sub>COO). ИК: 2119 (с, ν<sub>асим</sub> N<sub>3</sub>); 1765 (с, ν C=O); 1620 (сл.); 1610 (ср., ν C=C Ph); 1590 (ср., ν C=C Ph); 1520 (оч.с., ν<sub>асим</sub> NO<sub>2</sub>); 1480 (ср., ν C=C Ph); 1460 (ср., δ CH<sub>2</sub>); 1398 (ср., δ CH<sub>2</sub>, (CH<sub>2</sub>CO)); 1347 (оч.с., ν<sub>сим</sub> NO<sub>2</sub>); 1253 (сл., ν<sub>сим</sub> N<sub>3</sub>); 1200 (оч.с., ν C-O); 1165 (с, ν C-O); 1105 (сл., ν C-N), 1130 (ср.); 1055 (сл., ν C-N); 1005 (сл.); 855 (с, δ C-H Ph), 710 (сл., μ CH<sub>2</sub>).

**1-(3-Азидопропил)-4-[N-(2-(имидазол-4-ил)этил)карбамоилметил]-1,4-дiazониабицикло[2.2.2]октана бромид хлорид (X).** Соединение (X) получали из 49 мг (0.44 ммоль) гистамина (свободного основания) и 197 мг (0.4 ммоль) активированного эфира (IX) по описанной выше для соединения (VII) методике. Получали слабоокрашенное очень гигроскопичное аморфное вещество. Выход 70 мг (38%). <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.99 (тт<sub>псв</sub>, 7.8, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J<sub>псв</sub> 9.2); 2.69 (т, 2H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im, J 7.0); 3.35 (дт, 2H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im, J<sub>д</sub> 5.5, J<sub>т</sub> 7.0); 3.53 (т<sub>псв</sub>, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J<sub>псв</sub> 9.2); 3.88<sup>a</sup> (т, 6H, N<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH, J 7.5); 3.97 (т<sub>псв</sub>, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J<sub>псв</sub> 7.8); 4.10<sup>a</sup> (т, 6H, N<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH, J 7.5); 4.43 (с, 2H, NCH<sub>2</sub>CONH); 6.65 (д, 1H, H5 Im, J 1.0); 7.57 (д, 1H, H2 Im, J 1.0); 8.91 (т, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im, J 5.5). <sup>13</sup>C-ЯМР: 23.25 (1C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 26.67 (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im); 40.45 (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im); 48.25 (1C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 52.45<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH); 53.32<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH); 61.32<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 64.52<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, NCH<sub>2</sub>CONH); 117.64 (1C, CH, C5 Im); 135.72 (1C, C, C4 Im); 136.15 (1C, CH, C2 Im); 163.41 (1C, C, NCH<sub>2</sub>CONH).

**1-(3-Азидопропил)-4-[N-(1-метоксикарбонил-2-(имидазол-4-ил)этил)карбамоилметил]-1,4-дiazониабицикло[2.2.2]октана бромид хлорид (XI).** Соединение (XI) получали из 74 мг (0.44 ммоль) метилового эфира L-гистидина и 197 мг (0.4 ммоль) активированного эфира (IX) по описанной выше для соединения (VII) методике. Получали слабоокрашенное очень гигроскопичное аморфное вещество. Выход 83 мг (40%). <sup>1</sup>H-ЯМР: 2.03 (тт, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J 6.5, 7.4); 2.99 (сложный мультиплет, центр масс АВ-части спектра спиновой системы АВХ; расчет спектра позволил выявить

следующие параметры системы:  $\delta_A$  2.95,  $\delta_B$  3.02, 2H, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im,  $J_{AB}$  14.5,  $J_{AX}$  5.0,  $J_{BX}$  7.9); 3.50 (т, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>,  $J$  6.5); 3.57 (т, 2H, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>,  $J$  7.4); 3.65 (с, 3H, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 4.03<sup>a</sup> (т, 6H, N<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH,  $J$  7.3); 4.08<sup>a</sup> (т, 6H, N<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH,  $J$  7.3); 4.54 (с, 2H, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH); 4.60 (дт<sub>псв</sub>, 1H, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im,  $J_{дпсв}$  5.0,  $J_{тпсв}$  7.6 ((7.3 + 7.9)/2)); 6.95 (с, 1H, H5 Im); 7.68 (с, 1H, H2 Im); 9.32 (д, 1H, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im,  $J$  7.3). <sup>13</sup>C-ЯМР: 21.43 (1C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 28.44 (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 47.47 (1C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 50.23<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH); 51.39<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH); 52.09 (1C, CH<sub>3</sub>, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 52.64 (1C, CH, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 61.17<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, N<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 61.62<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH); 116.88 (1C, CH, C5 Im); 129.12 (1C, C, C4 Im); 132.41 (1C, CH, C2 Im); 162.37 (1C, C, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH); 170.84 (1C, C, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im).

**1-(3-Аминопропил)-4-[N-(2-(имидазол-4-ил)-этил)карбамоилметил]-1,4-дiazониабицикло[2.2.2]октана бромид хлорид (XII).** 63 мг (0.136 ммоль) азиды (X) растворяли в 2 мл метанола и гидрировали в присутствии 10 мг 10% палладия на угле в течение 3 ч. Катализатор отфильтровывали, а фильтрат упаривали досуха, получая после высушивания в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub> соединение (XII) в виде бесцветной стеклообразной массы. Выход 59 мг (97%). <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.84 (тт<sub>псв</sub>, 2H, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>,  $J_{псв}$  6.5, 8.2); 2.64 (т, 2H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im,  $J$  7.7); 2.66 (т<sub>псв</sub>, 2H, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>,  $J_{псв}$  6.5); 3.37 (дт, 2H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im,  $J_{д}$  5.7,  $J_{т}$  7.7); 3.57 (т<sub>псв</sub>, 2H, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>,  $J_{псв}$  8.2); 3.96<sup>a</sup> (т, 6H, NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH,  $J$  7.5); 4.13<sup>a</sup> (т, 6H, NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH,  $J$  7.5); 4.43 (с, 2H, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH); 6.64 (д, 1H, H5 Im,  $J$  0.9); 7.53 (д, 1H, H2 Im,  $J$  0.9); 8.92 (т, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im,  $J$  5.7). <sup>13</sup>C-ЯМР: 24.11 (1C, CH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 27.55 (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im); 38.08 (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im); 40.75 (1C, CH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 50.22<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH); 51.40<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH); 61.92<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH); 62.29<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 118.05 (1C, CH, C5 Im); 133.53 (1C, C, C4 Im); 136.36 (1C, CH, C2 Im); 162.01 (1C, C, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH).

**1-(3-Аминопропил)-4-[N-(1-метоксикарбонил-2-(имидазол-4-ил)этил)карбамоилметил]-1,4-дiazониабицикло[2.2.2]октана бромид хлорид (XIII).**

Соединение (XIII) получено из 42 мг (0.08 ммоль) азиды (XI) по описанной выше для соединения (XII) методике в виде бесцветной стеклообразной массы. Выход 32 мг (81%). <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.82 (тт<sub>псв</sub>, 2H, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>,  $J_{псв}$  6.3, 7.5); 2.68 (т<sub>псв</sub>, 2H, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>,  $J_{псв}$  6.3); 2.95 (сложный мультиплет, центр масс АВ-части спектра спиновой системы АВХ; расчет спектра позволил выявить следующие параметры системы:  $\delta_A$  2.88,  $\delta_B$  3.01, 2H, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im,  $J_{AB}$  14.4,  $J_{AX}$  4.8,  $J_{BX}$  8.2); 3.58 (т<sub>псв</sub>, 2H, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>,  $J_{псв}$  7.5); 3.65 (с, 3H, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 3.99<sup>a</sup> (т, 6H, NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH,  $J$  7.0); 4.08<sup>a</sup> (т, 6H, NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH,  $J$  7.0); 4.50 (с, 2H, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH); 4.58 (дт<sub>псв</sub>, 1H, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im,  $J_{дпсв}$  4.8,  $J_{тпсв}$  7.8 ((7.4 + 8.2)/2)); 6.89 (с, 1H, H5 Im); 7.54 (с, 1H, H2 Im); 9.26 (д, 1H, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im,  $J$  7.4). <sup>13</sup>C-ЯМР: 24.05 (1C, CH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 28.73 (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 37.78 (1C, CH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 50.27<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH); 51.45<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>CONH); 52.06 (1C, CH<sub>3</sub>, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 52.74 (1C, CH, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 61.67<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH); 62.14<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, NH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 118.32 (1C, CH, C5 Im); 135.26 (1C, C, C4 Im); 137.21 (1C, CH, C2 Im); 162.33 (1C, C, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH); 170.95 (1C, C, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im).

**Этил-4-[(4-нитрофенокси)карбоксиметил]-1,4-дiazониабицикло[2.2.2]октана дибромид (XV).** Соединение (XV) получено из 2.21 г (0.01 моль) 1-этил-1-азониа-4-азабицикло[2.2.2]октана бромиды (XIV) [16] и 2.86 г (0.011 моль) алкилирующего агента (V) по описанной выше для соединения (IX) методике в виде очень гигроскопичных бесцветных кристаллов. Выход 3.96 г (82%). <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.28 (т, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>,  $J$  7.3); 3.62 (кв, 2H, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>,  $J$  7.3); 4.05<sup>a</sup> (т, 6H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>COO,  $J$  7.5); 4.26<sup>a</sup> (т, 6H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>COO,  $J$  7.5); 5.19 (с, 2H, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>COO); 7.60 (д<sub>псв</sub>, 2H, H2, H6 Ph,  $J_{псв}$  9.0); 8.36 (д<sub>псв</sub>, 2H, H3, H5 Ph,  $J_{псв}$  9.0). <sup>13</sup>C-ЯМР: 8.28 (1C, CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 50.33<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>COO); 52.54<sup>a</sup> (3C, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub><sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>CH<sub>2</sub>COO); 60.22<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 61.85<sup>b</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>COO); 123.79 (2C, CH, C2, C6 Ph); 126.13 (2C, CH, C3, C5 Ph); 146.30 (1C, C, C4 Ph); 154.50 (1C, C, C1 Ph); 162.94 (1C, C, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>COO).

**1-[3-(N-((1-Этилдiazониабицикло[2.2.2]окт-4-ил)метил)карбониламино)пропил]-4-[N-(2-(имидазол-4-ил)этил)карбамоилметил]-1,4-diazониабицикло[2.2.2]октана трибромид хлорид (XVI).**



К раствору 44 мг (0.1 ммоль) амина (XII) и 48 мг (0.1 ммоль) активированного эфира (XV) в минимальном количестве DMF прибавляли 11 мг (0.11 ммоль) триэтиламина и выдерживали в течение 48 ч при 45°C. Реакционную смесь упаривали в вакууме, растирали полученную вязкую массу с этанолом, дважды промывали этанолом, затем ацетоном и высушивали в вакууме над P<sub>2</sub>O<sub>5</sub>. Получали слабоокрашенное очень гигроскопичное аморфное вещество. Выход 40 мг (51%). <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.28 (т, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J 6.9); 1.97 (ушир. м, 2H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 2.73 (т, 2H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im, J 6.6); 3.25 (ушир. м, 2H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 3.38 (дт, 2H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im, J<sub>д</sub> 5.1, J<sub>т</sub> 6.6); 3.62 (кв, 2H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J 6.9); 3.75 (ушир. м., 2H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 4.03<sup>a</sup>, 4.14<sup>a, b</sup>, 4.19<sup>b</sup> (уширенные сигналы, мультиплетная структура не просматривается, 6H, 12H, 6H, <sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>); 4.50<sup>c</sup> (с, 2H, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im); 4.64<sup>c</sup> (с, 2H, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>); 7.05 (с, 1H, H5 Im); 8.00 (с, 1H, H2 Im); 8.97 (т, 1H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im, J 5.1); 9.14 (т, 1H, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>, J 5.8). <sup>13</sup>C-ЯМР: 7.53 (1C, CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 21.71 (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 25.72 (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im); 35.55<sup>a</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 35.79<sup>a</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im); 49.61<sup>b</sup>, 50.16<sup>c</sup>, 51.37<sup>b</sup>, 51.58<sup>c</sup> (3C, 3C, 3C, 3C, CH<sub>2</sub>, <sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>); 59.09<sup>d</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 59.31<sup>d</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 61.85<sup>e</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im); 63.65<sup>e</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>); 116.46 (1C, CH, C5 Im); 133.02 (1C, CH, C2 Im); 134.39 (1C, C, C4 Im); 162.12<sup>f</sup> (1C, C, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>Im); 162.54<sup>f</sup> (1C, C, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>).

**1-[3-(N-((1-Этилдиазониабцикло[2.2.2]окт-4-ил)метил)карбониламино)пропил]-4-[N-(1-метоксикарбонил-2-(имидазол-4-ил)этил)карбамилметил]-1,4-дiazониабцикло[2.2.2]октана трибромид хлорид (XVII).** Соединение (XVII) получено из 15 мг (0.03 ммоль) амина (XIII) и 14 мг (0.03 ммоль) активированного эфира (XV) по описанной выше для соединения (XVI) методике в виде слабоокрашенного очень гигроскопичного аморфного вещества. Выход 6.1 мг (24%). <sup>1</sup>H-ЯМР: 1.30 (т, 3H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J 7.0); 2.09 (ушир. м, 2H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 3.03 (сложный мультиплет, центр масс АВ-части спектра спиновой системы АВХ; расчет спектра позволил выявить следующие параметры системы: δ<sub>А</sub> 2.99, δ<sub>В</sub> 3.07, 2H, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im, J<sub>АВ</sub> 14.4, J<sub>АХ</sub> 4.9, J<sub>ВХ</sub> 8.0); 3.52 (кв, 2H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J 7.0); 3.57 (дт<sub>псв</sub>, 2H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J<sub>д псв</sub> 5.8, J<sub>т псв</sub> 7.3); 3.67 (с, 3H, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 3.83<sup>a</sup> (т, 6H,

CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>, J 7.6); 3.93<sup>b</sup> (т, 6H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>, J 7.1); 4.01 (т<sub>псв</sub>, 2H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J<sub>псв</sub> 7.5); 4.08<sup>b</sup> (т, 6H, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>, J 7.1); 4.16<sup>a</sup> (т, 6H, CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>, J 7.6); 4.46<sup>c</sup> (с, 2H, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 4.50<sup>c</sup> (с, 2H, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>); 4.77 (дт<sub>псв</sub>, 1H, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im, J<sub>д псв</sub> 4.9, J<sub>т псв</sub> 7.7 ((7.4 + + 8.0)/2)); 7.03 (с, 1H, H5 Im); 7.95 (с, 1H, H2 Im); 8.96 (т, 1H, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>, J 5.8); 9.20 (д, 1H, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im, J 7.4). <sup>13</sup>C-ЯМР: 7.45 (1C, CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 21.66 (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 24.48 (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 35.49 (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 49.60<sup>a</sup>, 50.26<sup>b</sup>, 51.32<sup>a</sup>, 51.53<sup>b</sup> (3C, 3C, 3C, 3C, CH<sub>2</sub>, <sup>+</sup>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>); 52.15 (1C, CH<sub>3</sub>, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 52.70 (1C, CH, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 59.15<sup>c</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 59.38<sup>c</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, CONHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N<sup>+</sup>); 61.99<sup>d</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 63.71<sup>d</sup> (1C, CH<sub>2</sub>, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>); 115.94 (1C, CH, C5 Im); 128.75 (1C, CH, C4 Im); 132.00 (1C, C, C2 Im); 162.27<sup>e</sup> (1C, C, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONH(CH<sub>2</sub>)<sub>3</sub>N<sup>+</sup>); 162.59<sup>e</sup> (1C, C, <sup>+</sup>NCH<sub>2</sub>CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im); 171.04 (1C, C, CONHCH(COOCH<sub>3</sub>)CH<sub>2</sub>Im).

**Расщепление РНК в присутствии химических рибонуклеаз.** Реакцию гидролиза РНК химическими нуклеазами проводили в течение 12 ч при 37°C. Реакционная смесь (10 мкл) содержала 50 мМ имидазольный буфер (рН 7.0), 0.2 М NaCl, 0.5 мМ EDTA, 0.1 мг/мл РНК-носителя, 0.5–5 мМ химическую рибонуклеазу и 50000 имп/мин [5'-<sup>32</sup>P]тРНК KRW. Реакцию останавливали добавлением 100 мкл 2% раствора перхлората лития в ацетоне, осадок РНК отделяли центрифугированием, промывали 100 мкл ацетона и растворяли его в буфере для нанесения на гель, содержащем 4 М мочевины и красители. Продукты гидролиза анализировали с помощью электрофореза в 15% ПААГ, содержащем 8 М мочевины. Отнесения сайтов гидролиза проводили сравнением с продуктами частичного гидролизата [5'-<sup>32</sup>P]тРНК KRW РНКазой T1 и имидазолом [11, 17].

## БЛАГОДАРНОСТИ

Настоящая работа поддержана грантами Российского фонда фундаментальных исследований (№ 99-04-49538, 98-03-32958 и 96-15-97732) и грантом INTAS № 96-1418.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Зенкова М.А., Власов А.В., Коневец Д.А., Сильников В.Н., Жижге Р., Власов В.В. // Биоорганическая химия. 2000. Т. 26. С. 679–685.

2. Knorre D.G., Vlassov V.V., Zarytova V.F., Lebedev A.V., Fedorova A.S. // Design and Targeted Reaction of Oligonucleotide Derivative. Boca Raton Ann. Arbor. London-Tokyo: CRC Press Inc., 1994.
3. Власов В.В., Сильников В.Н., Зенкова М.А. // Молекуляр. биология. 1998. Т. 32. С. 62–70.
4. Trawick B.N., Daniher A.T., Bashkin J.K. // Chem. Rev. 1998. V. 98. P. 939–960.
5. Tabushi I., Kobuke Y., Imuta J. // Nucl. Acids Symp. Ser. 1979. V. 6. P. 175–178.
6. Konevets D.A., Beck I.E., Beloglazova N.G., Sulimenkov I.V., Sil'nikov V.N., Zenkova M.A., Shishkin G.V., Vlassov V.V. // Tetrahedron. 1999. V. 55. P. 503–512.
7. Corey E.J., Nicolaou K.C., Balanson R.D., Machida Y. // Synthesis. 1975. P. 590.
8. The Sadtler Standard Spectra: Nuclear Magnetic Resonance Spectra // 1966–1988. Philadelphia, Sadtler Research Laboratory. V. 1–86. № 1M–48000M.
9. Гюнтер Х. Введение в курс спектроскопии ЯМР: Пер. с англ. М.: Мир, 1984.
10. Беллами Л. Инфракрасные спектры сложных молекул: Пер. с англ. М.: ИИЛ, 1963.
11. Helm M., Brulé H., Degoul F., Cepanec C., Leroux J.-P., Giege R., Florentz C. // Nucl. Acids Res. 1998. V. 26. P. 1636–1643.
12. Ждан Н.С., Кузнецова И.Л., Власов А.В., Сильников В.В., Зенкова М.А., Власов В.В. // Биооргани. химия. 1999. Т. 25. С. 723–732.
13. Podyminogin M.A., Vlassov V.V., Giege R. // Nucl. Acids Res. 1993. V. 21. P. 5950–5956.
14. Троицкий С.Ю., Лихолобов В.А., Симонов П.А., Лисицын А.С., Романенко А.В., Троицкий Д.Ю., Попова Т.А., Ян Г.Н.-Ч., Швец П.К., Камцен В.А., Плаксин Г.В., Суровикин В.Ф. Способ приготовления палладиевого катализатора на углеродном носителе для гидрирования *o*-нитрофенола в *o*-аминофенол: А. с. 1593009 СССР // Б.И. 1999. № 16 (2). С. 519.
15. Russell D.W. // Biochem. J. 1961. V. 78. P. 696.
16. Garratt P.J., Ibbett A.J., Ladbury J.E., O'Brien R., Hursthouse M.B., Abdul Malik K.M. // Tetrahedron. 1998. V. 54. P. 949–968.
17. Helm M., Giege R., Florentz C. // Biochemistry. 1999. V. 38. P. 13338–13346.

### Chemical Ribonucleases: 3. The Synthesis of Organic Catalysts for the Phosphodiester Bond Hydrolysis on the Basis of Quaternary Salts of 1,4-Diazabicyclo[2.2.2]Octane

D. A. Konevets\*<sup>#</sup>, I. E. Beck\*\*, V. N. Sil'nikov\*, M. A. Zenkova\*, and G. V. Shishkin

\*Novosibirsk Institute of Bioorganic Chemistry, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, prosp. Akademika Lavrent'eva 8, Novosibirsk, 630090 Russia

\*\*Boreskov Institute of Catalysis, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, prosp. Akademika Lavrent'eva 5, Novosibirsk, 630090 Russia

On the basis of imidazole and bisquaternary salts of 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane, a number of highly effective catalysts of the  $nDm$  series (here,  $n$  is the number of positive charges at neutral pH values and  $m$  is the digital code of the catalytically active fragment: 1, histamine, and 2, histidine methyl ester) were synthesized for the cleavage of the phosphodiester bonds in ribonucleic acids. A general method for the synthesis of chemical ribonucleases was suggested, which helps vary both the number of positive charges in their RNA-binding domain and the catalytic center. By the example of hydrolysis under physiological conditions of the *in vitro* transcript of tRNA<sup>Lys</sup> from human mitochondria, it was shown that the RNA cleavage rate with the  $nDm$  conjugates increases approximately 30-fold along with the increase in the number of positive charges from two to four.

*Key words:* artificial ribonucleases, catalysis, polycations, RNA cleavage

<sup>#</sup> To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (3832) 396-229; e-mail: chek@niboch.nsc.ru.

For the full text of English translation of this article, see *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2000, vol. 26, no. 11. It is also available (free) in PDF format through the Web Site <http://www.maik.rssi.ru/>.