



УДК 547.963.32

**ИСПОЛЬЗОВАНИЕ КОМБИНАЦИИ ТРИФЕНИЛФОСФИНА
С ЧЕТЫРЕХХЛОРИСТЫМ УГЛЕРОДОМ В КАЧЕСТВЕ
КОНДЕНСИРУЮЩЕГО АГЕНТА В ОЛИГОНУКЛЕОТИДНОМ СИНТЕЗЕ****Мишенина Г. Ф., Салуков В. В., Семенова Л. Н.,
Шубина Т. Н.**Специальное конструкторско-технологическое бюро
биологически активных веществ, Новосибирск;**Новосибирский институт органической химии Сибирского отделения
Академии наук СССР*

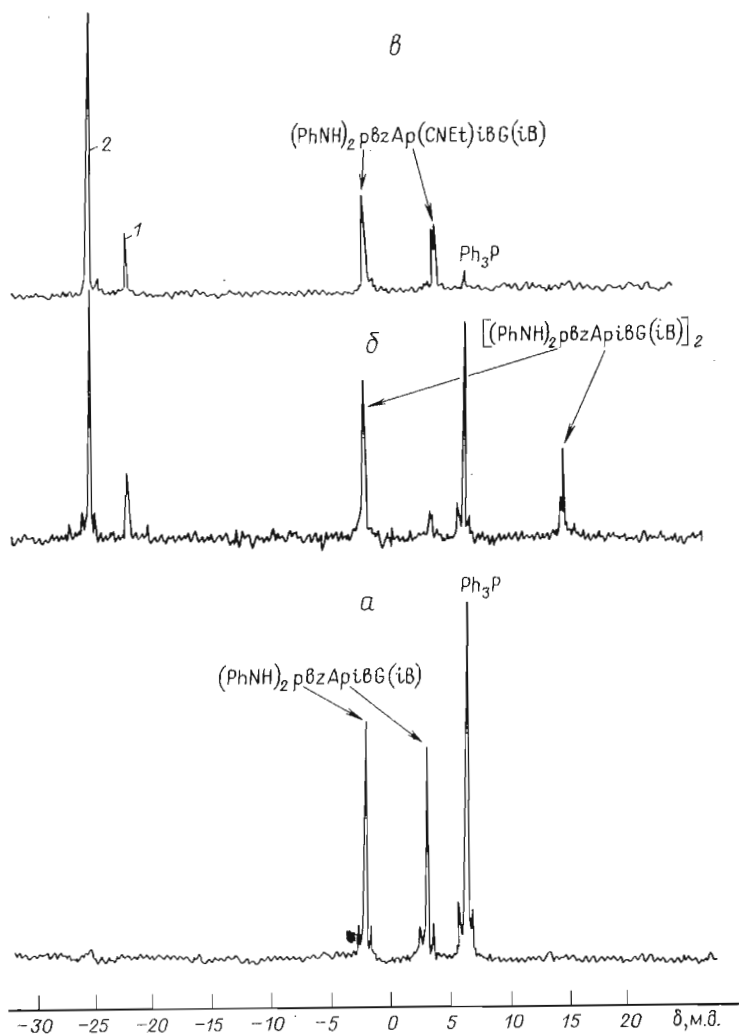
Известно, что трифенилфосфин в комбинации с четыреххлористым углеродом ($\text{Ph}_3\text{P} - \text{CCl}_4$) широко применяется в препаративной органической химии для реакций галогенирования, дегидратирования, образования P—N-связи [1, 2]. В настоящей работе показано, что смесь трифенилфосфина с CCl_4 может также с успехом использоваться в олигонуклеотидном синтезе для образования фосфодиэфирной связи и для превращения диэфиров фосфорной кислоты в триэфиры. Реакции протекают в мягких условиях при комнатной температуре в среде сухого пиридина, заканчиваются в пределах 1—2 ч с высоким выходом целевых продуктов.

По данным ^{31}P -ЯМР активация фосфодиэфирной группы в присутствии $\text{Ph}_3\text{P} - \text{CCl}_4$ и образование соответствующего фосфотриэфира проходит аналогично описанному ранее с использованием арилсульфохлорида, т. е. через образование тетразамещенного пирофосфата [3].

Триэфиры олигодезоксинуклеотидов были получены в присутствии $\text{Ph}_3\text{P} - \text{CCl}_4$ и β -цианэтанола на примере $(\text{PhNH})_2\text{pbzApibG}(i\text{B})$ и $(\text{PhNH})_2\text{pTrpbzApibG}(i\text{B})$. В реакционной смеси менее чем через 2 ч обнаруживали с выходом, близким к количественному, полностью защищенные олигонуклеотидные блоки (см. рисунок), которые после удаления дианилидной защитной группы использовали в качестве нуклеотидного компонента при синтезе нонадезоксинуклеотида.

Смесь $\text{Ph}_3\text{P} - \text{CCl}_4$ использовали также для образования фосфодиэфирной связи. С этой целью были получены ди- и тринуклеотиды, которые выделяли экстракционным методом. Данные по активации фосфомоноэфирной группы в присутствии $\text{Ph}_3\text{P} - \text{CCl}_4$ будут опубликованы позже. Синтезированные соединения проанализированы микроколоночной хрома-

* Нуклеотиды, обсуждаемые в статье, принадлежат дезоксирияду, поэтому префикс d для краткости всюду опускается.



Спектры ^{31}P -ЯМР реакционной смеси при синтезе $(\text{PhNH})_2\text{pbzAp}(\text{CNEt})\text{ibG}(\text{iB})$:
a — исходная смесь 0,1 ммоль $(\text{PhNH})_2\text{pbzApibG}(\text{iB})$, 0,3 ммоль Ph_3P , 0,03 мл CCl_4
и 0,7 ммоль цианэтанола в пиридине; *b* — реакционная смесь через 20 мин при 25°;
c — то же через 2 ч. 1, 2 — производные Ph_3P

тографией в системе Томлинсона — Тенера (pH 7,5) до и после удаления дианилидной защитной группы, а также ТСХ в системе ацетонитрил — вода (4 : 1). После удаления всех защитных групп синтезированные олигонуклеотиды были идентичны полученным ранее [2, 4]. Выходы олигодезоксинуклеотидов приведены в таблице.

Соединение	Выход, %	Соединение	Выход, %
$(\text{PhNH})_2\text{panCpibG}(\text{iB})$	55	$(\text{PhNH})_2\text{panCpTpT}$	65
$(\text{PhNH})_2\text{pibCpT}(\text{Ac})$	70	$(\text{PhNH})_2\text{panCpanCpibG}$	60
$(\text{PhNH})_2\text{pbzApT}(\text{Ac})$	69		

Синтез 5'-дианилидов N,O-ацилдезоксинуклеотидов. Смесь 0,2 ммоль 5'-дианилида N-ацилдезоксимононуклеотида, 0,3 ммоль N,O-ацилдезоксимононуклеотида, 0,9 ммоль Ph_3P и 0,09 мл CCl_4 в 1—1,5 мл сухого пиридина выдерживали 2 ч при 20°. Затем добавляли воду и удаляли пиридин

азетропной отгонкой в вакууме. Остаток растворяли в 4—6 мл 0,2 М водного раствора бикарбоната триэтиламмония и экстрагировали сначала этилацетатом (4 × 1,5 мл), затем смесью этилацетат — *n*-бутанол, 7 : 3 (4 × 3 мл). Последний органический слой упаривали досуха, растворяли в хлороформе или пиридине и осаждали в 25—40 мл эфира.

Синтез 5'-дианилидов N-ацилдезокситринуклеотидов. Раствор 0,3 ммоль 5'-дианилида N-ацилдезоксимононуклеотида, 0,1 ммоль N,O-ацилдезоксидинуклеотида, 0,5 ммоль Ph₃P и 0,05 мл CCl₄ в 1—1,5 мл сухого пиридина оставляли на 2 ч при 20°. Затем добавляли воду и экстрагировали реакционную смесь сначала эфиром, потом смесью CH₂Cl₂ — *n*-бутанол, 8 : 2 (3 × 15 мл). Последний органический слой упаривали досуха, растворяли в смеси пиридин — 2 н. NaOH (1 : 1) и удаляли O-ацетильную защитную группу по стандартной методике [5]. Олигонуклеотид осаждали из пиридина в эфир.

Синтез pбzAp(CNEt)ibG(iB). К раствору 0,2 ммоль (PhNH)₂pбzApibG(iB) в 1 мл абс. пиридина добавили 0,1 мл β-цианэтанол, 0,6 ммоль Ph₃P и 0,06 мл CCl₄. После 2-часовой выдержки к смеси добавляли 1 мл ледяной уксусной кислоты и 0,5 мл изоамилнитрита для удаления дианилидной защитной группы и оставляли на ночь при 20°. Затем к реакционной смеси добавляли 1 мл воды, упаривали, остаток растворяли в 3 мл ацетонитрила и наносили на колонку с 50 мл силикагеля. Элюцию проводили смесью ацетонитрил — вода (9 : 1). Вещество с R_f 0,50 собирали, элюат упаривали в вакууме. Остаток растворяли в пиридине и осаждали в эфир. Выход 52%.

Аналогично из 0,1 ммоль (PhNH)₂pTpбzAp(CNEt)ibG(iB) с выходом 86% получен pTp(CNEt)бzAp(CNEt)ibG(iB).

ЛИТЕРАТУРА

1. Appel R. (1975) *Angew. Chem. internat. Edit.*, **14**, 801—811.
2. Мишенина Г. Ф., Самуков В. В., Семенова Л. Н., Шубина Т. Н. (1978) *Биоорганическая химия*, **4**, 735 — 739.
3. Зарьтова В. Ф., Кнорре Д. Г., Лебедев А. В., Левина А. С., Резвухин А. И. (1974) *Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим. наук*, вып. 3, 126—131.
4. Shaller H., Khorana H. G. (1963) *J. Amer. Chem. Soc.*, **85**, 3841—3847.
5. Weimann G., Schaller H., Khorana H. G. (1963) *J. Amer. Chem. Soc.*, **85**, 3835—3841.

Поступило в редакцию
25.I.1978

После доработки
17.III.1978

TRIPHENYLPHOSPHINE-CCl₄ AS A CONDENSING REAGENT IN THE OLIGONUCLEOTIDE SYNTHESIS

MISHENINA G. F., SAMUKOV V. V., SEMENOVA L. N., SHUBINA T. N.

*Special Technological Bureau for Designing Biologically
Active Compounds, Novosibirsk;
Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch
of the Academy of Sciences of the USSR, Novosibirsk*

Triphenylphosphine—carbon tetrachloride combination is proposed as a condensing reagent for the synthesis of oligodeoxynucleotides. Phosphodiester bond formation in pyridine occurs rapidly with this reagent and terminates within 1-2 hours at room temperature. Several blocked di- and trinucleotides are prepared in 55-70% yield by solvent extraction procedure. Triphenylphosphine-CCl₄ is also effective in the synthesis of oligonucleotide triesters.