



ПИСЬМА РЕДАКТОРУ

УДК 547.963.32

ИСПОЛЬЗОВАНИЕ α -ОКСИПИРИДИЛОВЫХ ЭФИРОВ
НУКЛЕОТИДОВ В ОЛИГОНУКЛЕОТИДНОМ СИНТЕЗЕ*Николаев А. В., Туркин С. И., Потанов В. К.,
Шабарова З. А.**Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова*

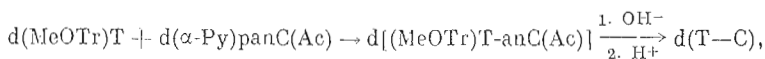
Наиболее распространенный в настоящее время метод синтеза олигонуклеотидов основан на взаимодействии нуклеозидного и нуклеотидного компонентов в присутствии большого избытка конденсирующего агента (три-изопропилбензолсульфохлорида и др.) [1,2]. Главным недостатком этой схемы является образование значительного количества арилсульфокислоты и ряда побочных продуктов, затрудняющих очистку и выделение полученного олигонуклеотида, а также расщепление межнуклеотидной связи в процессе синтеза, происходящее под действием конденсирующего агента [3,4].

Вариантом, позволяющим избежать указанных осложнений, является подход, основанный на разделении стадий активации нуклеотида и образования межнуклеотидной связи. При этом на первом этапе проводится синтез, выделение и очистка активированного эфира нуклеотида, а образование межнуклеотидной связи протекает затем без участия конденсирующего агента. Возможность использования α -оксиридиловых эфиров как фосфорилирующих агентов была показана ранее [5].

В настоящей работе изучена возможность проведения олигонуклеотидного синтеза по такой схеме через α -оксиридиловые эфиры мононуклеотидов. Электрофильная активность атома фосфора в таких соединениях повышена за счет электроно-акцепторного влияния пиридинового кольца, кроме того, распад α -оксиридилового эфира с образованием активной фосфорилирующей частицы облегчается за счет протонирования атома азота пиридинового цикла.

Исходные α -оксиридиловые эфиры защищенных дезоксицитидин- и дезоксиаденозин-5'-фосфатов были получены с 70%-ным выходом при взаимодействии соответствующего 5'-нуклеотида с избытком α -оксиридирина в присутствии N, N'-дициклогексилкарбодимида по усовершенствованной методике [6] и выделены экстракцией хлороформом с последующим переосаждением в эфир. Как показало измерение констант гидролиза, соединения устойчивы в растворе пиридина и водных растворах при pH ≥ 7 , однако скорость гидролиза резко возрастает при значениях pH ниже 4, что свидетельствует в пользу приведенного выше механизма кислотного катализа.

Полученные эфиры были использованы в синтезе двух динуклеозидфосфатов — d(TrC) и d(TrA) по схеме:



где $\alpha\text{-Py}$ — α -оксиридил.

Реакцию проводили смешением компонентов в растворе абсолютного пиридина при температуре 50° в течение 12 ч без дополнительной активации. Выход обоих динуклеозидфосфатов при использовании 10-кратного избытка 5'-О-метокситриэтилтимидина — 100% и заметно снижается (до 60%) при уменьшении избытка до 3—5-кратного, что связано, по-видимому, с частичным гидролизом α -оксиридилевого эфира следами воды в пиридине. Сравнительно высокая температура проведения синтеза не приводит к деградации нуклеотидного материала.

Таким образом, описанный подход к синтезу олигонуклеотидов представляется достаточно перспективным с учетом возможности количественного образования межнуклеотидной связи при минимальном количестве побочных продуктов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Khorana H. G., Vizsoly J. P., Ralf R. K. (1962) J. Amer. Chem. Soc., 84, 414—418.
2. Lohrman R., Khorana H. G. (1966) J. Amer. Chem. Soc., 88, 829—833.
3. Jacob T. M., Khorana H. G. (1965) J. Amer. Chem. Soc., 87, 368—374.
4. Nachmann J., Khorana H. G. (1969) J. Amer. Chem. Soc., 91, 2749—2757.
5. Takaku H., Shimada J. (1973) Chem. Pharm. Bull., 21, 445—447.
6. Kampe W. (1966) Chem. Ber., 99, 593—601.

Поступило в редакцию
6.III.1975