



УДК 547.963.32.057:577.413.3

АМИНОНУКЛЕОЗИДЫ И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ

X*. 2'-ДЕЗОКСИДИНУКЛЕОЗИДФОСФАТЫ И 2'-ДЕЗОКСИДИНУКЛЕОТИДЫ
С ФОСФАМИДНЫМИ СВЯЗЯМИЗайцева В. Е., Скапцова Н. В., Ажаев А. В.,
Краевский А. А.

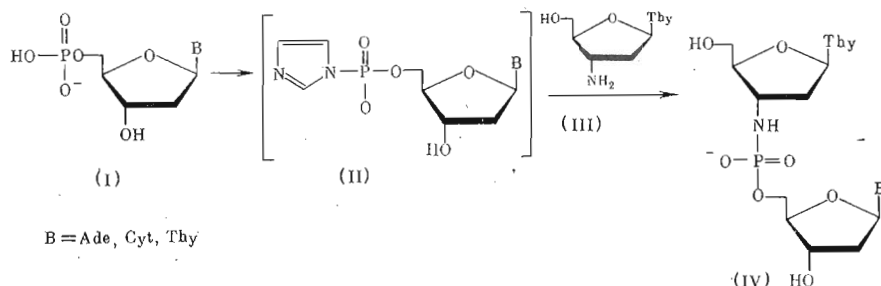
Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

Конденсацией имидазолидов 2'-дезоксинуклеозид-5'-фосфатов с 3'-деокси-3'-аминотимидином синтезированы три динуклеозидфосфата дезоксирибозы с N-P-связями. Аналогичным методом из 3'-деокси-3'-азидотимидин-5'-фосфата и 3'-деокси-3'-аминотимидин-5'-β-цианэтилфосфата получен 5'-фосфат-3'-деокси-3'-аминотимидил-(3'-5')-3'-деокси-3'-аминотимидин, который олигомеризован с помощью водорастворимого карбодиимида в олиготимидилаты с N-P-связями с кратностью мономерных звеньев 4, 6 и 8. Синтезированные соединения являются первыми аналогами дезоксиолигонуклеотидов с межнауклеотидными группами 3'NH-P-O5'. В 3'-амино-3'-деокситимидин-5'-фосфате 3'-аминогруппа имеет рK_a 9,1-9,2.

Ранее нами сообщалось о синтезе динуклеозидмонофосфатов и три-нуклеозиддифосфатов рибозы с фосфамидными межнауклеотидными связями [2] и возможности их применения для изучения объектов молекулярной биологии [2-4]. Продолжая исследование в этом направлении в 2'-деоксирибозу, мы осуществили синтез динуклеозидфосфатов с N-P-связью. Кроме того, рассмотрена возможность получения более протяженных олигонуклеотидов с N-P-связями [5].

Синтез 2'-дезоксинуклеозидфосфатов с N-P-связью осуществлялся по схеме 1. Н⁺-Формы для пиримидиновых нуклеотидов (I, B=Thy и I, B=Cyt) и трибутиламониевую соль для аденинового нуклеотида (I, B=Ade) реакцией с N,N'-карбонилдиимдазолом превращали в соответствующие имидазолиды (II), которые без выделения конденсировали с 3'-деокси-3'-аминотимидином (III) [6] в водно-органической среде в соответствующие 2'-дезоксинуклеозидфосфаты (IV).

Схема 1



B = Ade, Cyt, Thy

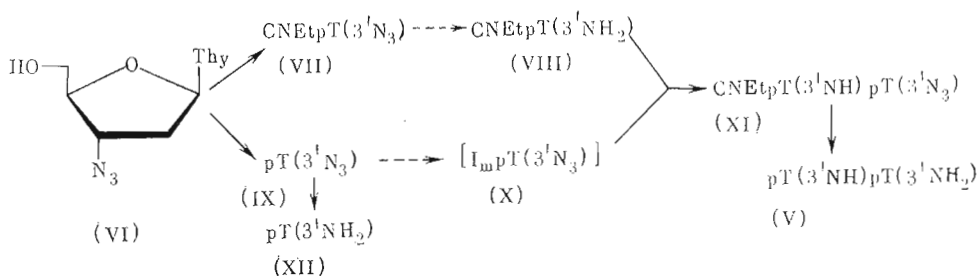
Чистота полученных соединений определялась с помощью ТСХ, ВЭЖХ и ЭФ, а структура — ПМР- и УФ-спектрами.

Для изучения возможности синтеза дезоксиолигонуклеотидов с N-P-связями осуществлен синтез дитимидилата (V). При олигомеризации такого димера разделение продуктов реакции представлялось более удобным, чем при олигомеризации мономера, так как в этом случае олигомеры будут различаться между собой на два фосфата, а не на один.

* Сообщение IX см. [1]. Сокращения: ЭФ — электрофорез, ИОХ — ионообменная хроматография.

Синтез дитимидилата (V) осуществлен в соответствии со схемой 2. 3'-Дезокси-3'-азидотимидин (VI) [6] реакцией с β-цианэтилфосфатом превращали в 3'-дезоксидитимидин-5'-β-цианэтилфосфат (VII) [6], который далее восстанавливали над Pd/C в 3'-дезоксидитимидин-5'-β-цианэтилфосфат (VIII).

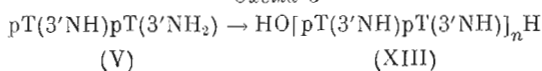
Схема 2



Другой компонент конденсации, 3'-дезоксидитимидин-5'-фосфат (IX), получен прямым фосфорилированием соединения (VI) POCl_3 в триэтилфосфате. После активации соединения (IX) $\text{N,N}'$ -карбонилдипимидолом получали 3'-дезоксидитимидин-5'-имидазолилфосфат (X). Образующийся при конденсации фосфатов (X) и (VIII) в водной среде 5'-β-цианэтилфосфат 3'-дезоксидитимидил-(3'-5')-3'-дезоксидитимидина (XI) восстанавливали Ph_3P и гидролизовали в 5'-фосфат 3'-дезоксидитимидил-(3'-5')-3'-дезоксидитимидина (V).

Соединение (V) (триэтиламмониевая соль) далее олигомеризовали в присутствии N -циклогексил- N' -[β-(N -метилморфолин)этил] карбодипиридина в водной среде в соответствии со схемой 3.

Схема 3



$n = 2, 3, 4$.

Полученные олигомеры (XIII) разделяли на DEAE-сефадексе А-25 (HCO_3^-) в градиенте концентрации NH_4HCO_3 , pH 7,5. Все соединения охарактеризованы подвижностями при ТСХ, ИОХ, ЭФ при разных pH и УФ-спектрами. Разделение олигомеров показало, что при конденсации образуются тетрамер (XIII, $n=2$, выход 18–30%), гексамер (XIII, $n=3$, выход ~25%), октамер (XIII, $n=4$, выход 10–12%). Повторная хроматография каждого из веществ в более растянутом градиенте подтвердила их гомогенность. Были найдены продукты модификации за счет карбодипиридина с измененным УФ-спектром ($\lambda_{\text{макс}}$ 261 нм (256 нм, плечо)). Эти

Таблица 1

Значения химических сдвигов δ протонов Н-2'а и Н-2'б (м. д.) в соединении (XII) и разность $\Delta\delta$ этих протонов и протонов *трет*-бутанола (внутреннего стандарта, м. д.) при различных pH (см. рис. 1 и 2)

pH	δ сигналов			$\Delta\delta$ сигналов		
	1	2	3	1	2	3
5,90	2,966	2,898	2,832	1,459	1,391	1,325
7,92	2,896	2,833	2,776	1,435	1,371	1,305
8,52	2,870	2,800	2,727	1,419	1,349	1,276
8,75	2,852	2,780	2,715	1,395	1,323	1,258
9,06	2,842	2,815	2,752	1,385	1,358	1,295
9,35	2,827	2,800	2,727	1,352	1,325	1,252
9,62	2,790	2,725	2,682	1,315	1,250	1,207
10,62	2,745	2,685	2,630	1,288	1,228	1,173
11,38	2,705	2,640	2,580	1,245	1,120	1,052
						0,980

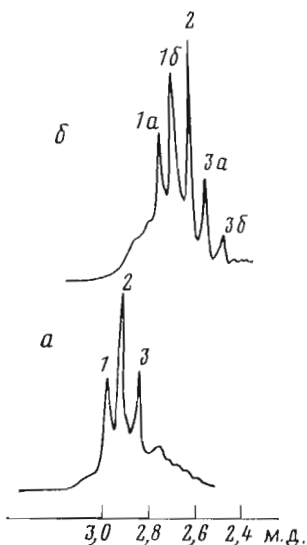


Рис. 1

Рис. 1. Сигналы Н-2'а- и Н-2'б-протонов в соединении (XII) при рН 5,9 (а) и 11,38 (б)

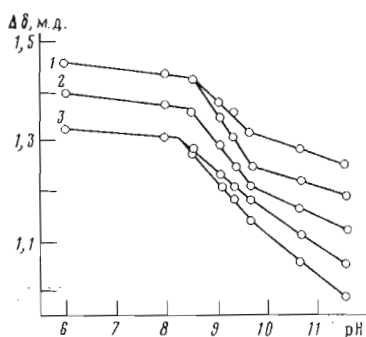


Рис. 2

Рис. 2. Разность в хим. сдвигах $\Delta\delta$ (м.д.) между протонами Н-2'а и Н-2'б амина (XII) и внутреннего стандарта (трет-бутанол) по сигналам триплетов 1-3

вещества обработкой 5% NH_4OH превращались в немодифицированные олигомеры с характерным для последних УФ-спектром.

Отнесение олигомеров (XIII) сделано на основании их хроматографической и электрофоретической подвижностей, а также реакции с флуорескаминон и данных УФ-спектров флуорескаминовых производных. В УФ-спектрах последних (см. «Экспериментальную часть») по мере удлинения олиготимидилатной цепи увеличивался вклад хромофора тимина в поглощение при 268 нм по сравнению с поглощением при 360 нм, характерным для флуорескаминового хромофора, величина которого считалась постоянной. Для сравнения использовались данные по молекулярным экстинкциям, взятые из литературы [7].

Была оценена величина pK_a 3'-аминогруппы в 3'-дезоксиз-3'-аминотимидин-5'-фосфате (XII). Для этого азид (IX) восстанавливали с помощью Rh_3P и в соединении (XII) определяли pK_a аминогруппы титрованием образца (XII) NaOD в ампуле для ПМР с одновременной записью ПМР-спектра. Результаты измерений приведены в табл. 1 и на рис. 1, 2. Оценку проводили по сигналам протонов при $\text{C}_{2'}$, а именно $\text{H}_{2'a}$ и $\text{H}_{2'b}$. Сигналы протонов при $\text{C}_{3'}$, $\text{C}_{4'}$ и $\text{C}_{5'}$ по мере титрования частично перекрывались. В то же время триплет двух $\text{H}_{2'}$, проявляемый при нейтральном рН, по мере повышения рН среды превращался сначала в мультиплет из четырех, а затем из пяти сигналов. Поэтому 1-й и 3-й сигналы триплета расщеплялись далее на 1а и 1б, 3а и 3б (табл. 1, рис. 1). Как видно из рис. 2, середина перегиба кривых сдвига протонов в интервале депротонирования аминогруппы составляет 9,1-9,2, что соответствует pK_a NH_2 -группы. Для сравнения напомним, что величина pK_a 3'-аминогруппы в 3'-дезоксиз-3'-аминоадеозин-5'-фосфате, определенная ранее аналогичным методом [3], составляла 8,5. Таким образом, понижение значения pK_a в риборяду по сравнению с 2'-дезоксириборядом вызвано, по-видимому, влиянием соседней 2'-гидроксильной группы.

Экспериментальная часть

ТСХ проводили на пластинках с силуфолом UV_{254} (Kavalier, ЧССР) в системах *n*-бутанол — вода — AcOH , 5:3:2 (1), *изо*-пропанол — NH_4OH — вода, 7:1:2 (2), диоксан — вода — NH_4OH , 6:4:1 (3); *изо*-

Выход и физико-химические данные 3'-дезоксигуанозил-3'-аминогидрокси-2'-дезоксинуклеозидов (IV)

Вещество	Выход, %	R_f в системах		E_f^* при pH		Время удерживания при ВЭЖХ, мин	УФ, pH 7,0	
		1	2	2,5	7,5		λ_{\max} , нм	λ_{\min} , нм
(IV), B=Ade	43	0,52	0,29	-0,15	0,45	13,77	261	227
(IV), B=Cyt	44	0,46	0,23	-0,22	0,45	12,13	267	234
(IV), B=Thy	54	0,55	0,32	0,05	0,50	11,10	272 (pH 1)	236 (pH 1)
							267	232

* Относительно пикриновой кислоты.

Таблица 3

Выход и некоторые физико-химические характеристики синтезированных соединений

Вещество	Выход, %	R_f в системах						E_f^* при pH	
		1	2	3	4	5	6	2,5	7,5
(VII)	88	0,43	0,18					0,7	0,41
(VIII)	93	0,57	0,26					0	0,58
(IX)	77	0,35	0,35	0,42		0,48		0,55	0,87
(XI)	63	0,24	0,59			0,64		0,65	0,89
(V)	71	0,22	0,62	0,40	0,81	0,58	0,85	-0,10	0,79
(XII)	89	0,27	0,22	0,36		0,44		0	0,80
(XIII) n=2	18-30		0,16		0,30		0,84		1,10
n=3	25		0,12		0,45		0,34		1,95
n=4	10-12		0,09		0,65		0,25		2,30

* Относительно пикриновой кислоты.

пропанол — диоксан — вода — NH_4OH , 2:4:4:1 (4); ИОХ — на DEAE-бумаге (OH^-) в 0,1 и 0,2 М NH_4HCO_3 (5, 6). Электрофорез осуществляли на бумаге FN-16 (ГДР) в буферах с pH 2,5 и 7,5 (800 В, 22 В/см). ПМР-спектры снимали на спектрофотометре Varian XL 100-15 (США) в D_2O с внутренним стандартом *трет*-бутанолом. УФ-спектры регистрировали на спектрофотометре Beckman, модель 25 (США).

ВЭЖХ проводили на колонке Zorbax ODS (Du Pont, США) размером 0,46×25 см (хроматограф Varian 8500, детектор Varian UV-50 (США)). После нанесения динуклеозидфосфатов колонку промывали 5 мин 0,1 М NH_4OAc и затем соединения элюировали 10 мин линейным градиентом метанола в 0,1 М NH_4OAc (0,1 М NH_4OAc — 50% метанол в 0,1 М NH_4OAc , скорость 1 мл/мин).

3'-Дезокси-3'-аминогидрокси-2'-дезоксинуклеозиды (IV). 0,2 ммоль нуклеотида (I) (H^+ -форма для B=Thy и Cyt; $n\text{-Bu}_3\text{NH}^+$ -соль для B=Ade) растворяли в 2 мл DMF, вносили 0,8 ммоль $\text{N,N}'$ -карбонил-диимидазола, оставляли на 1 ч (контроль ТСХ в системе 1; образуется новое вещество с R_f на 0,2 больше, чем у исходного соединения (I)), вносили 0,1 мл воды, 0,1 мл Et_3N и 0,2 ммоль 3'-дезоксигуанозил-3'-аминогидрокси-2'-дезоксинуклеотида (III). Реакционную массу оставляли на 4 ч при 20° С контроль ТСХ, разбавляли до 50 мл дистиллированной водой и наносили на колонку 2,5×25 см с DEAE-целлюлозой (HCO_3^-). Элюцию проводили линейным градиентом NH_4HCO_3 в воде (0—0,1 М, 3 л), собирали пик при 0,06—0,07 М. Выход и физико-химические характеристики даны в табл. 2.

Спектр ПМР (δ , м.д.) соединения (IV), B=Thy: 7,79 (д, 1H, $J_{6,5\text{-CH}_2}$, 1,0 Гц, H-6), 7,74 (д, 1H, $J_{6,5\text{-CH}_2}$, 1,0 Гц, H-6), 6,37 (т, 1H, $J_{1',2'a,6}$, 6,0 Гц, H-1'), 6,31 (м, 1H, $J_{1',2'a,6}$, 6,0 Гц, H-1'), 5,00—3,59 (м, 2H-3', 2H-4', 4H-5', HOD), 2,50—2,22 (м, 4H, H-2'a, б), 1,93—1,92 (2д, 6H, 2CH₂-5).

(IV), B=Ade: 8,46 (с, 1H, H-8), 8,17 (с, 1H, H-2), 7,45 (д, 1H, $J_{6,5\text{-CH}_2}$,

Химические сдвиги (δ , м. д.) и константы спин-спинового взаимодействия (J , Гц – в скобках) производных 3'-дезоксигидро-3'-аминогидроимидазольной кислоты

Соединение	H-6	H-1'	H-2'
(VII)	7,94 д, 1H (1)	6,50 т, 1H (6)	2,77 т, 2H (6)
(VIII)	7,93 д, 1H (1)	6,57 т, 1H (6)	2,69 т, 2H (6)
(IX)	7,67 д, 1H (1)	6,16 т, 1H (6)	2,50 т, 2H (6)
(XI), 5'-нуклеотид	7,81 д, 1H (1)	6,23 т, 1H (6,5)	2,50 т, 2H (6)
3'-нуклеотид	7,72 д, 1H (1)	6,39 т, 1H (6,5)	2,70 т, 2H (7)
(V), 5'-нуклеотид	7,73 д, 1H (1)	6,30 т, 1H (6)	2,71 т, 2H (6)
3'-нуклеотид	7,72 д, 1H (1)	6,40 т, 1H (6)	2,90 т, 2H (7)
(XII)	7,75 д, 1H (1)	6,37 т, 1H (6)	2,70 т, 2H (6)

Соединение	CH ₃	β -CH ₂
(VII)	1,94 д, 3H (1)	3,11 т, 2H (6)
(VIII)	1,97 д, 3H (1)	2,89 т, 2H (6)
(IX)	1,91 д, 3H (1)	—
(XI), 5'-нуклеотид	—	2,90 т, 2H (6)
3'-нуклеотид	1,96 д, 6H (1)	—
(V), 5'-нуклеотид	—	—
3'-нуклеотид	1,94 д, 6H (1)	—
(XII)	1,94 д, 3H (1,0)	—

1,0 Гц), 6,41 (м, 1H, $J_{1', 2'a, \beta}$ 6,0 Гц, H-1' (Thd)), 5,93 (дд, 1H, $J_{1', 2'a} = J_{1', 2'\beta}$ 5,5 Гц, H-1' (Ado)), 4,9–3,5 (м, H-3' (Ado), H-3' (Thd), H-4' (Ado), H-4' (Thd), H-5'a, β (Ado), H-5'a, β (Thd), HOD), 3,00–1,82 (м, 4H, H-2'a, β (Ado), H-2'a, β (Thd)), 1,79 (д, 3H, 5-CH₃).

(IV), B-Cyt: 8,10 (д, 1H, $J_{5,6}$ 8,0 Гц, H-6 (Cyd)), 7,80 (д, 1H, $J_{5,6-CH_3}$ 1,0 Гц, H-6 (Thd)), 6,30 (т, 1H, $J_{1', 2'a, \beta}$ 6,0 Гц, H-1' (Thd)), 6,08 (д, 1H, $J_{5,6}$ 8,0 Гц, H-5 (Cyd)), 6,07 (т, 1H, $J_{1', 2'a, \beta}$ 3,2 Гц, H-1' (Cyd)), 5,00–3,78 (м, H-3' (Cyd), H-3' (Thd), H-4' (Cyd), H-4' (Thd), H-5'a, β (Cyd), H-5'a, β (Thd), HOD), 2,62–2,10 (м, 4H, H-2'a, β (Cyd), H-2'a, β (Thd)), 2,15 (д, 3H, 5-CH₃).

3'-Дезокси-3'-азидогидроимидазоль-5'- β -цианэтилфосфат (VII). Высушенные отгонкой с пиридином и затем с бензолом 695 мг (2,6 ммоль) 3'-дезоксигидро-3'-азидогидроимидазина (VI) и 1,2 г (5,2 ммоль) β -цианэтилфосфата (PyH⁺-соль) растворяли в 10 мл абс. тетрагидрофурана, вносили 2,4 г (12 ммоль) DCC и перемешивали 1 сут при 20° С. Контроль осуществляли по ТСХ в системе 1. Реакционную смесь фильтровали, раствор упаривали досуха, переупаривали с абсолютным этанолом, осадок растворяли в 100 мл воды, фильтровали, добавляли еще 400 мл воды и наносили на колонку (2,3×17 см) с DEAE-сефадексом А-25 (НСО₃⁻). Элюцию проводили линейным градиентом NH₄НСО₃, рН 7,5 (0–0,1 М, 4 л). Вещество (VII) элюируется при 0,037–0,050 М. Элюат упаривали, остаток переупаривали несколько раз с водой, затем с этанолом и высушивали. Выход соединения (VII) 0,79 г. Физико-химические свойства и данные ПМР приведены в табл. 3 и 4.

3'-Дезокси-3'-аминогидроимидазоль-5'- β -цианэтилфосфат (VIII). Растворяли 5,85 мг (1,5 ммоль) соединения (VII) в 15 мл метанола, добавляли 0,2 мл Et₃N и 300 мг 10% Pd/C и в течение 8 ч пропускали медленный ток H₂, проводя контроль по ТСХ в системе 1. Реакционную смесь фильтровали, катализатор промывали метанолом, соединенные растворы упаривали, остаток растворяли в 3 мл воды и фильтровали через колонку (1×6 см) с дауэксом 50×4 (NH₄⁺). Элюат упаривали. Выход соединения (VIII) 505 мг. Физико-химические свойства и данные ПМР приведены в табл. 3 и 4.

3'-Дезокси-3'-азидогидроимидазоль-5'-фосфат (IX). 2,0 г (7,5 ммоль) соединения (VI) и 2,6 г (16,0 ммоль) POCl₃ перемешивали 12 ч при 4° С в 15 мл триэтилфосфата (контроль ТСХ в системах 1 и 2), к реакционной

Отнесение олигомеров (XIII) с помощью флуорескаминных производных соединений (V), (XII), (XIII)

Вещество	OЕ ₂₆₃	OЕ ₂₆₀	A ₃₆₀ /A ₂₈₆	
			полученное	вычисленное
Флуорескаминиламин	0,55	0,17	0,32	0,36
(XII)-флуорескаминил	0,61	0,14	0,23	0,22
(V)-флуорескаминил	1,17	0,19	0,16	0,16
(XIII)-флуорескаминил				
с n=2	1,34	0,14	0,10	0,10
n=3	1,41	0,11	0,08	0,07
n=4	2,28	0,16	0,07	0,07

массе приливали 25% NH₄OH до pH 8–8,5, оставляли на 2 ч, добавляли 40 мл воды, оставляли еще на 4 ч и смесь экстрагировали эфиром (5×10 мл). Водный слой разбавляли водой до объема 500 мл, наносили на колонку (3,3×40 см) с DEAE-сефадексом (HCO₃⁻) и вещество элюировали линейным градиентом NH₄HCO₃ (0–0,2 М, 4 л). Соединение (IX) элюировали при 0,06–0,07 М, выход 2,2 г. Данные по соединению (IX) см. в табл. 3 и 4.

5'-β-Цианэтилфосфат-3'-дезоксигуанидин-3'-аминогидимидил - (3'-5')-3'-дезоксигуанидин-3'-азидогидимидин (XI). К раствору 243 мг (0,7 ммоль) соединения (IX) (H⁺) в 1 мл DMF добавляли 340 мг (2,1 ммоль) N,N'-карбонилдидимидазола, через 10 мин вносили 0,1 мл воды, 262 мг (0,7 ммоль) вещества (VIII) в 3 мл DMF и 0,2 мл Et₃N. Смесь перемешивали 1 ч при 20° С (контроль ТСХ в системах 1 и 2). Реакционную массу разбавляли 150 мл воды и наносили на колонку (3,3×40 см) с DEAE-сефадексом А-25 (HCO₃⁻). Элюцию проводили линейным градиентом NH₄HCO₃, pH 7,5 (0–0,2 М, 4 л). Основное вещество элюировали при 0,07–0,087 М, раствор упаривали, переупаривали с водой, повторно очищали аналогичным способом на DEAE-сефадексе и получали вещество (XI) с выходом 350 мг.

3'-Дезокси-3'-аминогидимидин-5'-фосфат (XII). Растворяли 56 мг (0,2 ммоль) ди-NH₄⁺-соли (XI) в 1 мл 10% NH₄OH, вносили 1,5 мл диоксана и 138 мг (0,6 ммоль) Ph₃P, перемешивали ночь при 20° С, упаривали вдвое, к остатку прибавляли 3 мл воды и 10 мл эфира. Водный слой экстрагировали эфиром (2×10 мл), разбавляли до 50 мл водой, наносили на колонку (2×20 см) с DEAE-сефадексом А-25 (HCO₃⁻) и вещества элюировали линейным градиентом NH₄HCO₃, pH 7,5 (0–0,2 М, 2 л). Соединение (XII) элюировали при 0,14–0,17 М. Раствор упаривали, переупаривали остаток с водой (5×10 мл), растворяли в 10 мл воды, пропускали через колонку (0,8×7 см) с дауэксом 50×4 (NH₄⁺) и раствор упаривали досуха. Выход 57 мг.

5'-Фосфат 3'-дезоксигуанидин-3'-аминогидимидил-(3'-5')-3'-дезоксигуанидин-3'-аминогидимидина (V). Растворяли 125 мг (0,2 ммоль) соединения (XI) в 1 мл 25% NH₄OH, вносили 3 мл пиридина и 500 мг Ph₃P, перемешивали 30 ч при 20° С, смесь упаривали, осадок промывали эфиром (3×2 мл), растворяли в 10 мл насыщенного NH₃/MeOH и оставляли на ночь при 20° С. Реакционную массу упаривали, остаток экстрагировали эфиром, хлороформом, растворяли в 2 мл воды, водный раствор промывали хлороформом, упаривали и осадок высушивали. Выход 115 мг. Характеристики см. в табл. 3 и 4.

Олигомеризация 5'-фосфата 3'-дезоксигуанидин-3'-аминогидимидил-(3'-5')-3'-дезоксигуанидин-3'-аминогидимидина (V). К раствору 200 мг (0,19 ммоль) соединения (V) (триэтиламмониевая соль) в 0,5 мл H₂O прибавляли 200 мг (0,52 ммоль) N-циклогексил-N'-[β-(N-метилморфолиний)этил] карбодимидина, перемешивали 4 ч при 20° С, фильтровали через колонку (1×7 см) с дауэксом 50×4 (NH₄⁺), колонку промывали водой, соединенные водные элюаты упаривали, остаток растворяли в 0,1 мл воды и наносили на ко-

лонку (1,2×65 см) с сефадексом G-10, вещества элюировали 1% NH₄OH, получали две фракции: а) 171 мг, λ_{макс} 268 нм; б) 33 мг, λ_{макс} 261 нм, плечо 256 нм. Фракцию «а» упаривали, растворяли в 50 мл воды и нанесли на колонку (2,5×17 см) с DEAE-сефадексом A-25 (HCO₃⁻). Вещества элюировали линейным градиентом NH₄HCO₃, pH 7,5 (0–0,4 М, 4 л). С колонки элюировались четыре пика с 0,07–0,09; 0,11–0,15; 0,18–0,23 и 0,27–0,34 М. Все фракции упаривали досуха, остатки переупаривали с водой (5×10 мл), абсолютным этанолом (2×10 мл) и высушивали. NH₄⁺-Соли (XIII) переводили в Na⁺-соли на колонках с дауэксом 50×4 (Na⁺). Обработывали порции по 5 ОЕ₂₆₇ каждого из препаратов в 0,1 мл воды и 0,1 мл 5% NaHCO₃ раствором 2 мг флуорескамина в 0,1 мл ацетона, реакционные растворы упаривали досуха, осадки многократно экстрагировали тетрагидрофураном (по 0,5 мл до исчезновения УФ-поглощения в тетрагидрофуране), растворяли в 5 мл воды и снимали УФ-спектры. Результаты приведены в табл. 5.

На основании ТСХ, ЭФ и УФ-спектров флуорескаминовых производных (табл. 5), содержащихся во фракциях 1–4, установлено строение соединений (V), (XIII) с n=2, (XIII) с n=3 и (XIII) с n=4 соответственно. УФ-спектры всех соединений были идентичны с λ_{макс} 267 нм, λ_{мин} 235 нм.

Авторы признательны В. П. Тимофееву и В. Л. Флорентьеву за снятие ПМР-спектров и помощь при их интерпретации.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ажаев А. В., Озол А. М., Краевский А. А., Гнучев Н. В., Готтих Б. П. Биоорганическая химия, 1982, т. 8, № 9, с. 1215–1224.
2. Озол А. М., Косенюк А. В., Дяткина Н. Б., Атражнев А. М., Ажаев А. В., Куханова М. К., Краевский А. А., Готтих Б. П., Смирт И. Биоорганическая химия, 1980, т. 6, № 9, с. 1307–1315.
3. Kutateladze T., Beabekashvili R., Azhayev A., Krayevsky A. FEBS Lett., 1983, v. 153, № 2, p. 420–426.
4. Карнейский М. Я., Сенченко В. Н., Яковлев Г. И., Колбановская Е. Ю. Биоорганическая химия, 1982, т. 8, № 3, с. 386–395.
5. Krayevsky A. A., Azhayev A. V., Kukhanova M. K., Scarsova N. V., Zaiceva V. E. Nucl. Acids Res., Symp. Ser., 1981, № 9, p. 203–205.
6. Fox J. J., Miller N. C. J. Org. Chem., 1963, v. 26, № 3, p. 936–941.
7. Weigle M., Debernardo S. L., Teng J. P., Leimgruber W. J. Amer. Chem. Soc., 1972, v. 94, № 16, p. 5927–5928.

Поступила в редакцию
28.VII.1983

AMINONUCLEOSIDES AND THEIR DERIVATIVES. X. 2'-DEOXYDINUCLEOSIDE PHOSPHATES AND 2'-DEOXYDINUCLEOTIDES WITH PHOSPHOAMIDE BONDS

ZAITSEVA V. E., SKAPTSOVA N. V., AZHAYEV A. V., KRAYEVSKY A. A.

Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow

Three 2'-deoxydinucleoside monophosphates with N→P bond were synthesized by condensation of 2'-deoxynucleoside 5'-phosphoimidazolides with 3'-deoxy-3'-aminothymidine. Starting from 3'-deoxy-3'-azidothymidine 5'-phosphate and 3'-deoxy-3'-aminothymidine 5'-β-cyanoethylphosphate, 5'-phosphate 3'-deoxy-3'-aminothymidyl-(3'→5')-3'-deoxy-3'-aminothymidine was synthesized by imidazolide method. This dinucleotide was oligomerized using water-soluble carbodiimide, thereby giving rise to oligothymidilates with N→P bonds and 4, 6 or 8 thymidilate residues. These compounds are the first analogues of deoxyoligonucleotides with NH→P internucleotide bonds. The pK_a of NH₂-group in 3'-deoxy-3'-aminothymidine 5'-phosphate is 9,1–9,2.