



УДК 547.857.7'455:577.113.6

© 1993 г. М. О. Тактакишвили

РЕАКЦИИ 4/6-АМИД-ЛАКТАМНОЙ ФУНКЦИИ
НУКЛЕИНОВЫХ ОСНОВАНИЙ*Тбилисский государственный университет, Тбилиси*

Рассмотрена реакционная способность амид-лактамной функции нуклеиновых оснований в олигонуклеотидном синтезе, способы активации, защиты и модификации этой функциональной группы, а также последующего удаления защит. Обсуждается целесообразность защиты амид-лактамной функции в ходе олигонуклеотидного синтеза.

По мере развития методов олигонуклеотидного синтеза расширялся спектр соединений, используемых для блокирования функциональных групп нуклеозидов и нуклеотидов. Различные ацильные остатки широко применяются для защиты экзоаминогрупп гетероциклических оснований цитидина, аденозина и гуанозина; ацильные, алкильные, ацетальные и кетальные группировки — для блокирования гидроксильных углеводного остатка. Остаток фосфорной кислоты защищают, используя замещенные арильные группы в триэфирном варианте [1—19] либо алкильные группы в фосфит-триэфирном (фосфамидитном) [20—42] методах олигонуклеотидного синтеза.

Несколько лет назад появились работы, в которых обсуждается высокая реакционная способность амид-лактамной функции в положении 4 уридина и тимидина, а также в положении 6 инозина и гуанозина. В этих работах показано, что таутомерный переход лактамной формы в реакционноспособную лактимную форму делает ее способной к взаимодействию с фосфорилирующими и конденсирующими реагентами олигонуклеотидного синтеза.

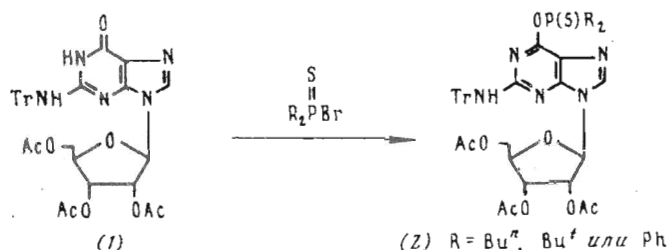
1. Активация амид-лактамной функции нуклеиновых оснований фосфорилирующими реагентами

Реакционноспособными специфическими реагентами, фосфорилирующими 6-карбонильную группу гуанозина (например, в производных типа (1)), являются

Список использованных сокращений: реагенты: DBN — 1,5-диазабицикло[4,3,0]нонен, DBU — 1,8-диазабицикло[5,4,0]ундецен, DMAP — 4-(диметиламино)пиридин, Ds-Cl — дансилхлорид, DMS-Cl — 4,6-диметоксибензол-1,3-дисульфохлорид, HbIm — 1-гидроксибензимидазол, DDQ — 2,3-дихлор-5,6-дициан-1,4-бензохинон, Im — имидазол, MeIm — 1-метилимидазол, Ms-Cl — 2,4,6-триметилбензолсульфохлорид (меситилсульфохлорид), Ms-NTrI — меситилсульфонил(3-нитро-1,2,4-триазол), Mds-Cl — 2,4,6-триметилбензол-1,3-дисульфохлорид (меситилдисульфохлорид), NTrI — 3-нитро-1,2,4-триазол(ил), PAO — тетраметилгуанидиниевая соль пиридин-*o*-карбальдоксимата, Piv-Cl — пивалоилхлорид, Py — пиридин, QS — хинолин-8-сульфохлорид, Tet — тетразол, THF — тетрагидрофуран, TPS-Cl — 2,4,6-триизопропилбензолсульфохлорид, TPS-NTrI — 2,4,6-триизопропилбензолсульфонил-3-нитро-1,2,4-триазол, TPS-Tet — 2,4,6-триизопропилбензолеульфонилтетразол, TrI — 1,2,4-триазол(ил), Ts-Cl — *p*-толуолсульфохлорид; защитные группы: ac(d)Rib — 2,3,5-три-*O*-ацетил- β -*D*-рибозил или -2'-дезоксид- β -*D*-рибозил, Bzl(OMe) — 4-метоксибензил, Bzl(OMe)₂ — 3,4-диметоксибензил, CNEt₃ се — 2-цианэтил, DiBE — диизобутирилоксиэтилен, Dps — дифенилкарбамоил, Ib — изобутирил, Ma — метоксиацетил, MEM — метоксиэтоксиметил, Mes — метилсульфонил(месил), Ph(Cl)₂ — 3,5-дихлорфенил, Tbs — (*tert*-бутил)диметилсилил, Thr — тетрагидропиранил, Tr — трифенилметил(тритил).

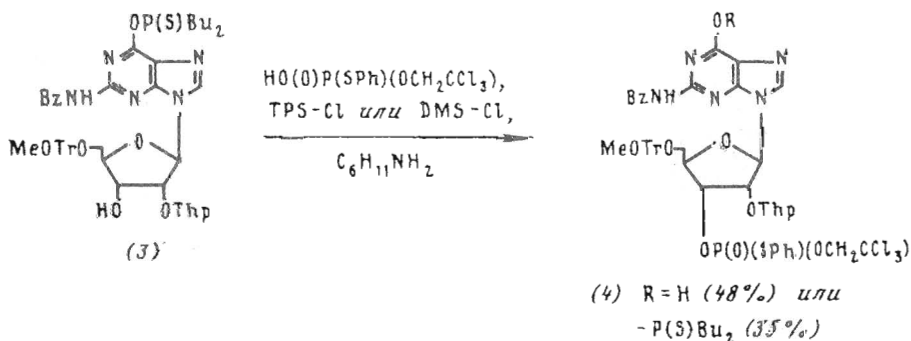
диалкилтиофосфинилгалогениды [43] (схема 1), приводящие, например, к тио-производному (2). При этом гидроксильные группы углеводного остатка защищать не обязательно.

Схема 1



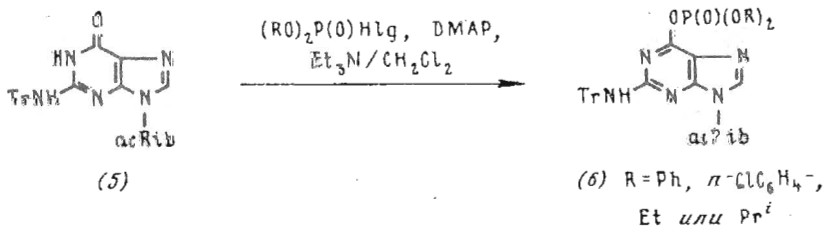
6-О-Тиофосфинилирование в принципе можно было бы рассматривать как способ блокирования положения 6, если бы вводимая группа не была довольно лабильна и частично не утрачивалась в ходе дальнейших превращений, что наблюдается, например, в ходе фосфорилирования соединения (3) по рибозе алкиларилфосфатами с образованием тиофосфатов (4) [43] (схема 2).

Схема 2



6-О-Фосфорилированные производные (6) получают при фосфорилировании защищенного по углеводному остатку и экзо-аминогруппе гуанозина (5) диалкил/диарилфосфогалогенидом [44] (схема 3).

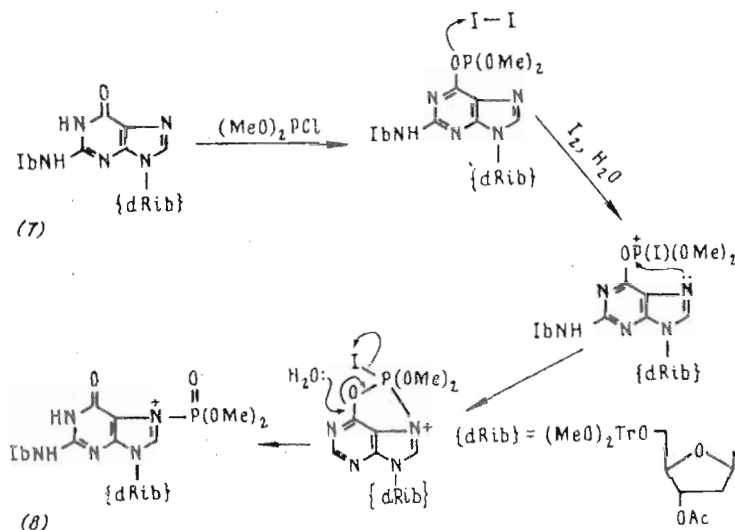
Схема 3



При использовании для образования межнуклеотидной связи в фосфиттриэфирном синтезе реакционноспособных хлорфосфитов, фосфамидитов, тетраэзо-

лидов параллельно происходит 6-О-фосфитирование гуанозина (в виде нуклеозида (7) или в составе олигонуклеотидов). Традиционное окисление иодом, используемое для перевода межнуклеотидного фосфита в фосфат в цикле элонгации нуклеотидной цепи, вызывает также активацию 6-фосфита, превращая его в аналог четвертичных фосфониевых солей, что в конечном счете приводит к миграции фосфитной группы из 6-го в 7-е положение (8) [45] (схема 4).

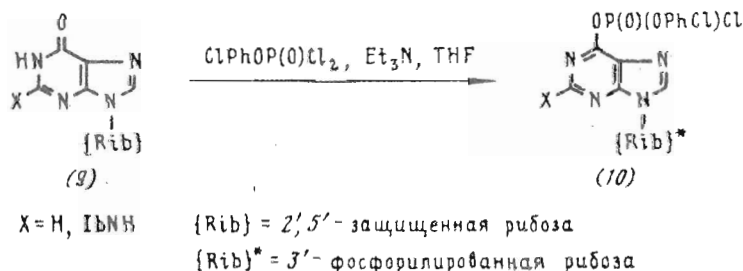
Схема 4



7-Фосфорилированный гуанозин (8) кислотолабилен и в условиях удаления защитной 5'-диметокситритильной группы апуринизуется.

Как отмечалось выше, модификация нуклеиновых оснований — это побочная реакция, неизбежно сопутствующая олигонуклеотидному синтезу. Например, 3'-фосфорилирование пуриновых нуклеозидов (9) фосфо-тристазолидом [46] или же замещенными алкилхлорфосфатами [46—50] с целью получения нуклеозид-3'-фосфатов для фосфотриэфирного олигонуклеотидного синтеза сопровождается фосфорилированием 6-карбонильной группы гетероциклических оснований гуанозина и инозина с образованием промежуточных реакционноспособных 6-фосфатов (10) (см., например, [47]) (схема 5). Кинетику образования таких фосфатов можно контролировать методами ПМР-спектроскопии и ТСХ [51].

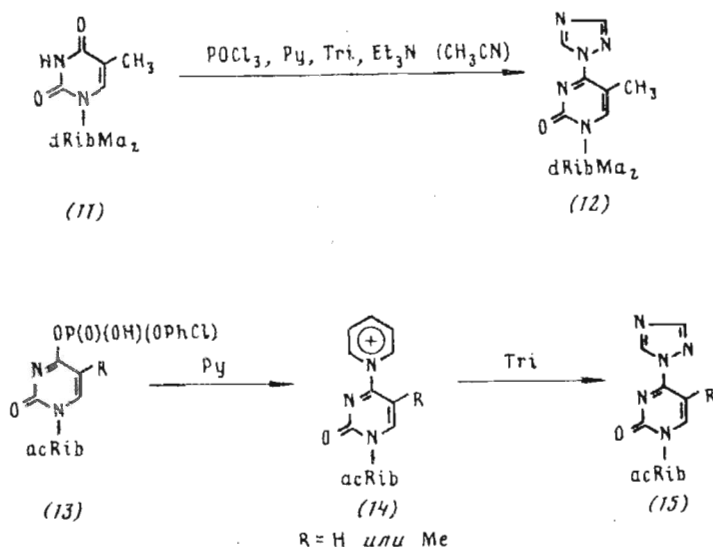
Схема 5



4-Фосфаты пиримидинов типа (13) крайне неустойчивы и уже в момент

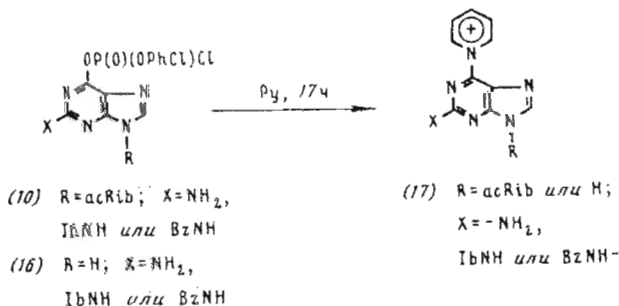
образования претерпевают дальнейшие превращения в реакциях с нуклеофилами. Так, при фосфорилировании пиридиннуклеозидов (11) первичные продукты реакции (13) в присутствии пиридина превращаются в 4-пиридилпроизводные (14) [51], которые при наличии в реакционной системе триазола (или нитро-триазола, бензтриазола и других азолов, а также при использовании фосфотриазолидов) переходят в 4-(1,2,4-триазол-1-ил)-производные (4-триазолиды) пиридининовых нуклеозидов (12), (15) [46, 50—54] (схема 6).

Схема 6



Для пуринов (схема 7) аналогичная последовательность превращений через фосфаты (10) и (16) обрывается на стадии образования 6-пиридилпуринов (17) — гуанозин и инозин 6-триазолидов не образуют [51, 55—61], хотя следует отметить, что в работе [62] авторы, не указывая прямо на образование 6-триазолида гуанозина, фактически используют его для введения по 6-О-положению *o*-нитрофенильной группы.

Схема 7

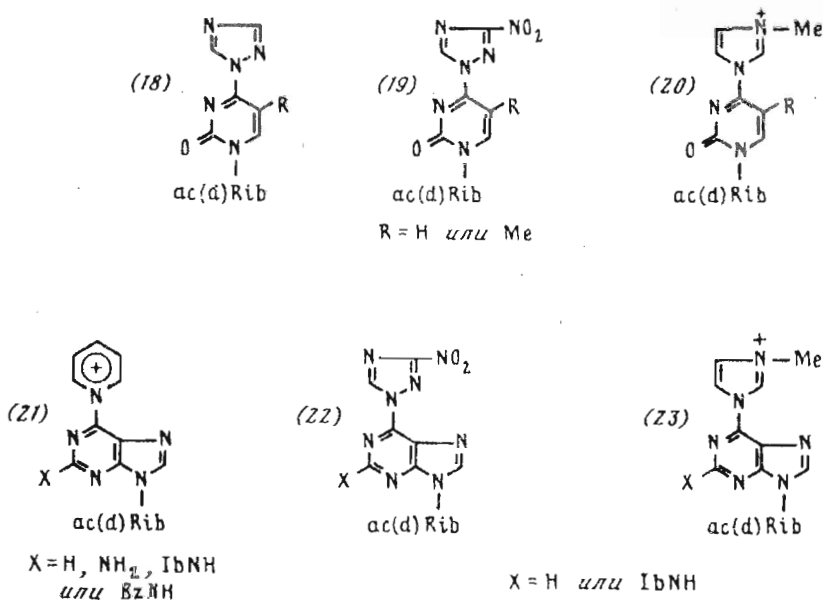


Скорость образования пиридиниевых солей пуриновых производных (17) падает в ряду: *N*-бензоилгуанозин (7,5) > гипоксантин (4,6) > *N*-изобутирилгуанозин (3,7) > гуанозин (1) (в скобках указаны относительные скорости реакции).

В то же время более реакционноспособные азолы (3-нитро-1,2,4-триазол и

1-метилимидазол) образуют окрашенные и флуоресцирующие азолиды, имеющие длинноволновые максимумы УФ-поглощения, при взаимодействии как с пиридинами (19), (20), так и с изобутирилгуанозином или инозином (22), (23) (см. схему 8 и табл. 1).

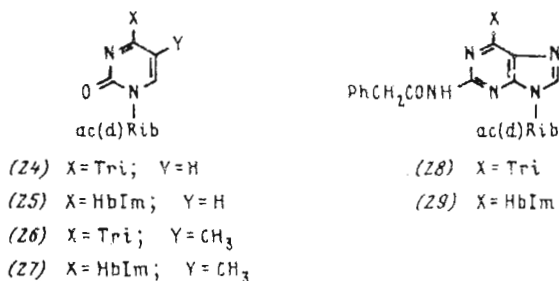
Схема 8



4/6-Пиридилпроизводные (14), (17), (21) и азолиды (18)—(20), (22), (23) проявляют сходную реакционную способность по отношению к алкилирующим реагентам (см. раздел 4), оксимат-иону, водному аммиаку и другим реагентам (см. раздел 7) [51].

Следует отметить, что в более ранней работе [63] было изучено действие азолидов — *o/n*-хлорфенилфосфо-бис(1,2,4-триазолида) и *o/n*-хлорфенилфосфо-бис(1-гидроксibenзимидазолида) — на полностью ацетилированные уридин, тимидин и фенилацетилгуанозин. Оказалось, что в результате с высокими выходами образуются как 4-азолиды пиримидинов (24) — (27), так и 6-азолиды фенилацетилгуанозина (28), (29) [53, 54, 63] (схема 9).

Схема 9



При этом активность фосфорилирующего реагента в модификации гетероциклического ядра возрастает в ряду: бистриазолид в THF < бистриазолид в

Спектры поглощения (А) и флуоресценции (F) некоторых производных нуклеозидов

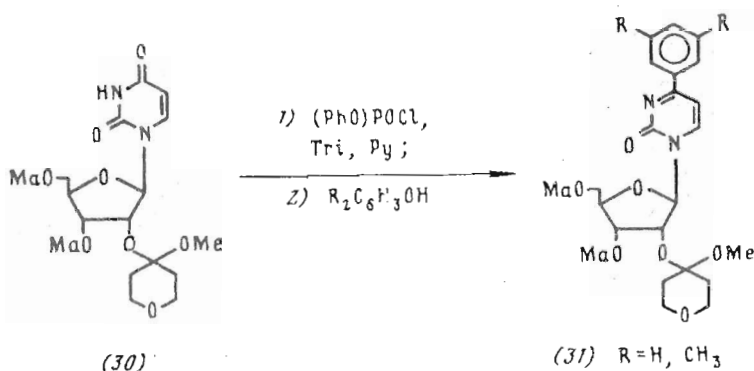
Производные нуклеозидов	4/6-Пиримидинуклеозиды (14), (21)				4-Триазолыды (18)				4-Нитротриазолиды (19), (22)				4-N-Метилимидазолиды (20), (23)				Литература
	А		F		А		F		А		F		А		F		
	λ_{max} (ε)	$\lambda_{\text{возб}}$	$\lambda_{\text{исп}}$ λ_{max}	$\lambda_{\text{возб}}$	λ_{max} (ε)	$\lambda_{\text{возб}}$	$\lambda_{\text{исп}}$ λ_{max}	$\lambda_{\text{возб}}$	λ_{max} (ε)	$\lambda_{\text{возб}}$	$\lambda_{\text{исп}}$ λ_{max}	$\lambda_{\text{возб}}$	λ_{max} (ε)	$\lambda_{\text{возб}}$	$\lambda_{\text{исп}}$ λ_{max}		
Уридина (14), (18) — (20)	333	313	490	313	316 (7500)	313	386	—	322 (5500)	—	—	—	250	313	383	48, 52, 55, 56	
Тимидина (14), (18) — (20)	327 (6800)	313	402 (6800)	313	327 (6800)	313	402	—	338 (5600)	—	—	—	326	313	402	56	
Гуанозина (21)	368	366	617	366	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	56	
2-N-Изобутирилгуанозина (21) — (23)	330 (5000)	366	525	366	—	—	—	—	319 (8500)	—	—	—	307 (8000)	313	376	56	
2-N-Бензоилгуанозина (21)	326	366	516	366	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	56, 58	

THF/пиридине < бис(1-гидроксibenзимидазолид) в THF < бис(1-гидроксibenзимидазолид) в THF/пиридине < бистриазолид + MeIm < бис(1-гидроксibenзимидазолид) + MeIm [63].

Реакция модификации обратима, а образующиеся соединения нестабильны — действие на реакционную смесь водой частично регенерирует исходные вещества. Например, продукты модификации производных уридина (24), тимидина (26) и гуанозина (28) фосфобистриазолидом гидролизуются в водном пиридине с образованием исходных нуклеозидов соответственно с выходом 23, 60 и 48%. В случае использования бис(1-гидроксibenзимидазолида) (соответственно производные (25), (27) и (29)) реакция модификации необратима [63].

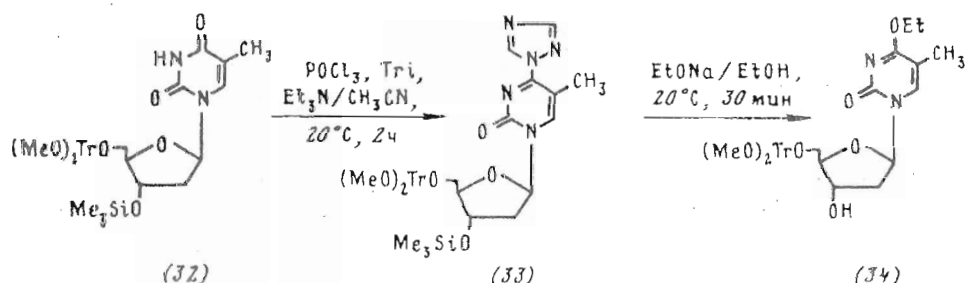
Нестабильность азолидов нуклеозидов используют для введения защитных групп по 4-О/6-О-положению. Например, таким путем 6-карбонил гуанозина можно защитить *o*-нитрофенильной группой, а 4-карбонил уридина — фенильной или 3,5-диметилфенильной группами (соединение (31), схема 10) [62].

Схема 10



С использованием 4/6-триазолидов по карбонильной группе оснований могут быть введены алкильные группы, например этильная группа в положение 6 гуанозина [64] или положение 4 тимидина (34) [65] (схема 11).

Схема 11

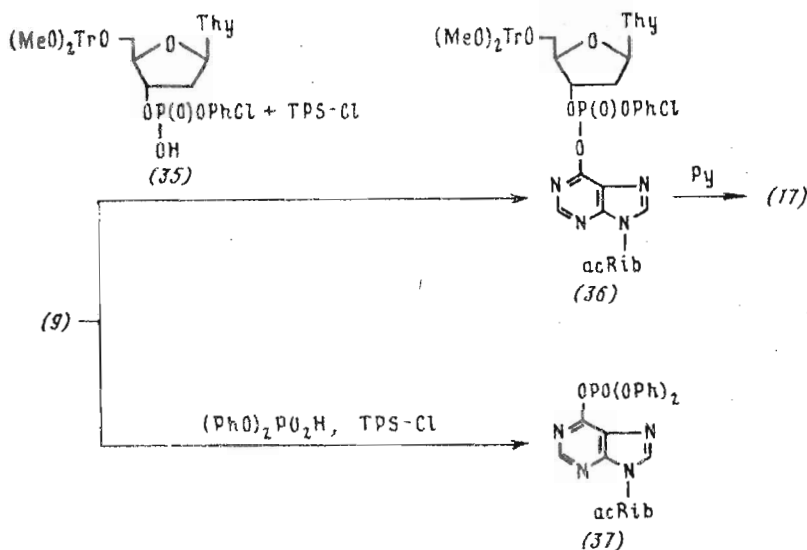


Известно, что ДНК [66—68] и синтетическим олигодезоксинуклеотидам [69, 70], содержащим 4/6-алкилированные основания, присущи канцерогенные свойства. С участием синтона (34) были синтезированы декамеры $T^{Et}T^{Et}CGACTACG$ и $GGGTT^{Et}TTCCG$ [65] — интересные объекты медико-биологического исследования.

2. Фосфорилирование в присутствии конденсирующего реагента

Образование межнуклеотидной фосфотриэфирной связи осуществляется реакцией конденсации между 5'-ОН-компонентом и нуклеозид-3'-фосфатом при действии конденсирующего реагента, т. е. реакцией 5'-фосфорилирования углеводного остатка. Параллельно происходит 4/6-О-фосфорилирование азотистых оснований в составе нуклеозида или олигонуклеотида. Реакцию 6-фосфорилирования изучали, в частности, на примере полностью защищенного инозина. При действии на 2', 3', 5'-три-О-ацетинозин ((9), X = Н) фосфорилирующих реагентов, таких, как защищенный тимидин-3'-фосфат (35) или дифенилфосфат, в присутствии конденсирующего реагента в среде пиридина образуются продукты 6-О-фосфорилирования — (36) [71, 72] или (37) [73] (схема 12).

Схема 12'



3. Активация амид-лактамной функции нуклеиновых оснований конденсирующими реагентами

При достаточно малом времени реакции межнуклеотидной конденсации (20—30 с) 4/6-положение азотистых оснований, вообще не успевает модифицироваться [74], однако в большинстве случаев, особенно при твердофазном олигонуклеотидном синтезе, для образования межнуклеотидной связи требуется больше времени и более высокие концентрации реагентов. Активные конденсирующие реагенты фосфотриэфирного олигонуклеотидного синтеза, при действии которых осуществляются межнуклеотидные конденсации, одновременно вызывают сопутствующую изомеризацию гетероциклических оснований в екольную форму, образуя с последней продукты замещения [75]. По реакционной способности в отношении амидной группы конденсирующие реагенты располагаются в ряд, совпадающей с рядом их активности к гидроксильным группам дезоксирибозного остатка. Например, наблюдается следующий ряд сульфонилирующей активности конденсирующих реагентов в отношении 6-карбонильной группы инозина в пиридине [55]:

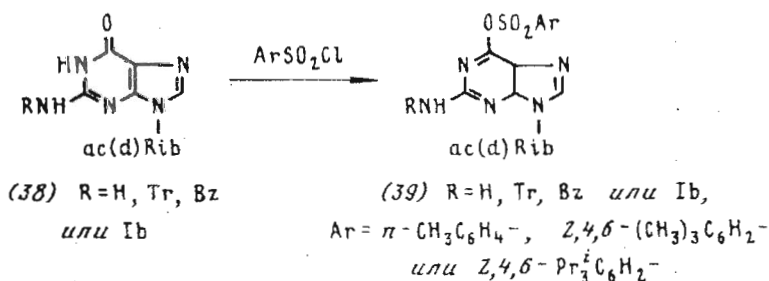


В меньшей степени активность конденсирующих реагентов — арилсульфо-

хлоридов — зависит от природы ароматического радикала. При выборе между Ts-Cl, Ms-Cl, Mds-Cl, Piv-Cl, TPS-Cl и QS-Cl для проведения межнуклеотидных конденсаций в фосфотриэфирном методе предпочтение отдается последнему [76, 77] как реагенту с более высокой избирательностью, для которого в меньшей степени выражены побочные реакции сульфонилирования углеводного остатка и амид-лактамной функции оснований. Хорошие результаты дает использование комбинаций TPS-Cl или Ms-NTri с MeIm [7, 12] или 4-алкоксипиридин-N-оксидом [8]. Используют также внутримолекулярный катализ, основанный на действии фосфатзащитных групп, содержащих остаток 1-метилимидазола [9, 10].

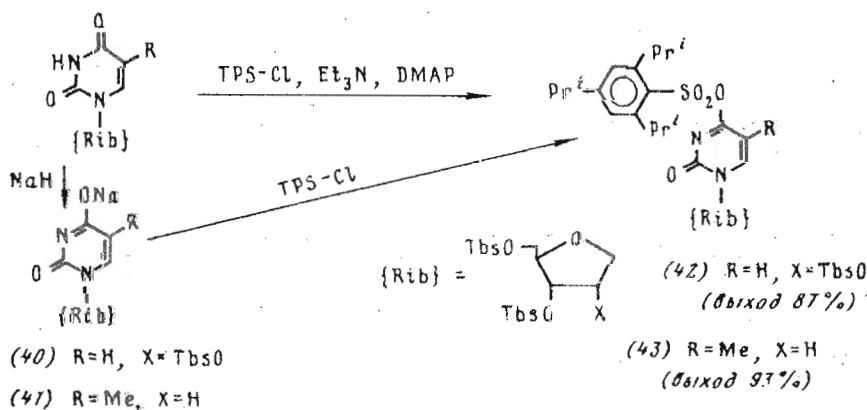
Препаративное сульфонилирование амидной группы гетероциклических оснований осуществляют действием конденсирующих реагентов на полностью ацилированные нуклеозиды, например (38) [73] (инозин сульфонилируется в положении 1 [78]). В результате образуются производные (39), из которых могут быть получены 4/6-алкилированные нуклеозиды (см. раздел 4 и схему 13).

Схема 13



При этом для модификации карбонильной группы пиримидинов путем перевода в промежуточный енолят ее активируют действием гидрида натрия. Таким путем с высокими выходами осуществили 4-О-сульфонилирование силепроизводных уридина (40) и тимидина (41) [79] (схема 14).

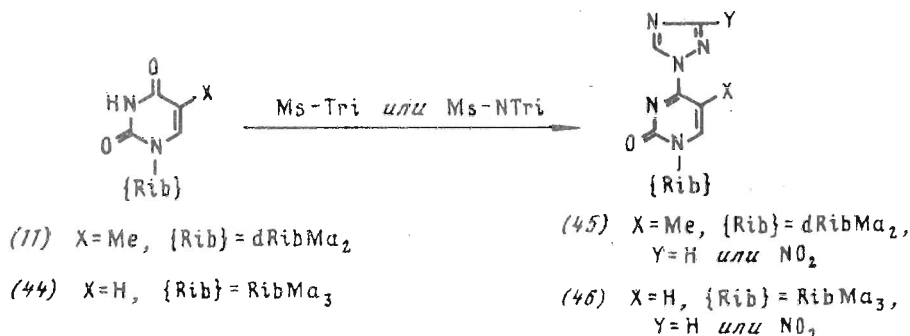
Схема 14



При арилсульфонилировании соединений (11) и (44) в присутствии азолов или при действии арилсульфазолидов продукты сульфонилирования претерпевают дальнейшее превращение в 4/6-азолиды. Например, при взаимодействии Ms-Trt или Ms-NTri с О-метоксиацетилованным уридином (44) образуются азолиды

(46), с тимидином — азолиты (45), с 2-N-фенилацетил-3', 5'-ди-O-метоксиацетил-2'-дезоксигуанозином (47) — азолиты (48) [46, 50—52, 54, 56—61, 71, 74] (схема 15).

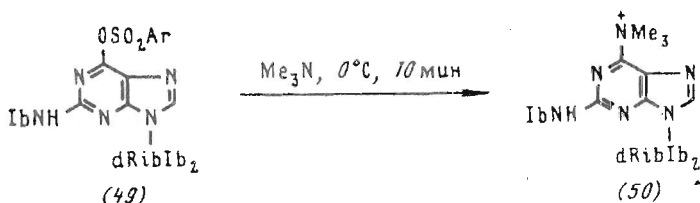
Схема 15



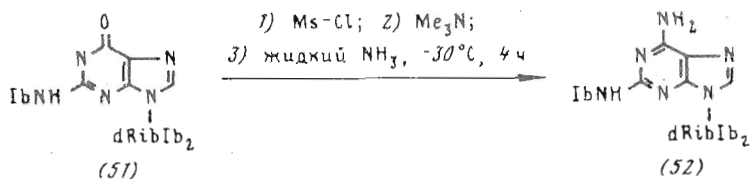
Реакционную способность 4/6-триазолидов тимидина, уридина и гуанозина можно использовать для введения по 4/6-положению защитных групп и пришивки нуклеозида к полимерному носителю (см. раздел 6).

При взаимодействии 4-O/6-O-арилсульфонилпроизводных, например замещенного дезоксигуанозина (49), с третичными и вторичными аминами в результате нуклеофильного замещения при 4/6-С образуются четвертичные аммониевые соли — триметиламмониевая (50) [80] (схема 16), 1-метилпирролидиниевая (60) (схема 18) [46], морфолиниевая [46], пиридиновая (14), (21) (схемы 6, 8) [43, 46, 50—52, 71, 81].

Схема 16

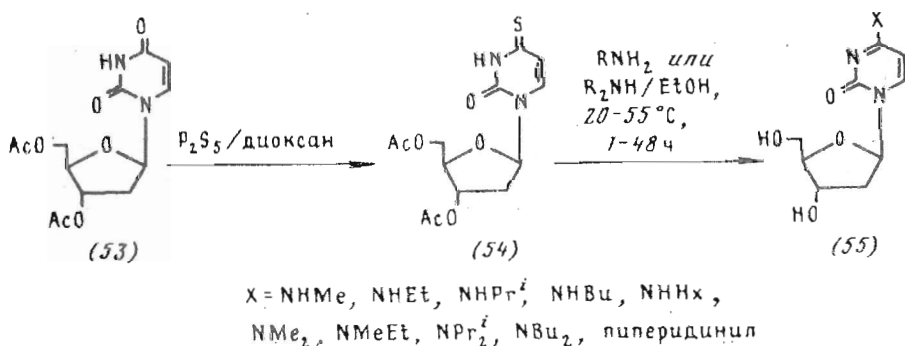


Эти соли, например триметиламмониевая соль, полученная из производного dGuo (51), обладают высокой реакционной способностью и могут вступать в реакцию нуклеофильного замещения с аммиаком с образованием, в частности, производного диаминопурина (52) [58] (схема 17) или же со спиртами, превращаясь в 6-алкоксипроизводные (56), (57) [82, 83] (см. схему 19).



4-Кетогруппу тимидина (11) и уридина (44) (здесь не рассмотрены) или 2'-дезоксигуанидина (53) в принципе можно активировать превращением в 4-тио-производное (54), которое затем легко вступает в реакцию нуклеофильного замещения с первичными и вторичными аминами с образованием производного (55) [84] (схема 18).

Схема 18

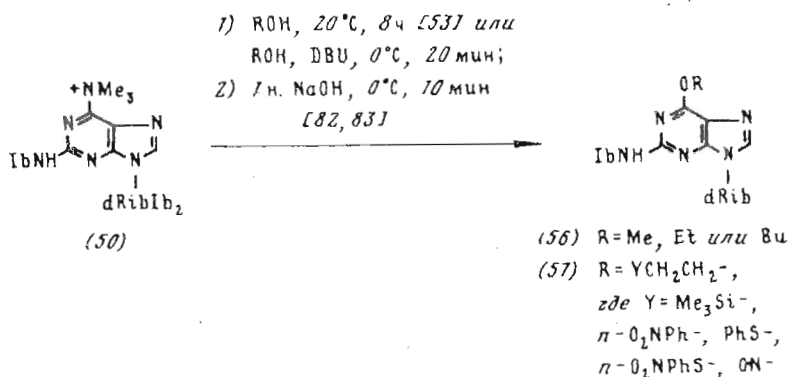


Синтез 4-N-моно- и 4-N-диалкилпроизводных дезоксицитидина (55) интересен постольку, поскольку, будучи включенными в ДНК и РНК, эти нуклеозиды модифицируют вторичную структуру биополимера, оказывая влияние на ход некоторых ферментативных реакций [85] (синтон (55) использовали для синтеза гексамера d(CGm⁴CGCG) [84]).

4. Алкильные защитные группы для амид-лактамной функции нуклеиновых оснований

В рибонуклеозидах O-алкильная группа может быть введена по 6-O-положению пуринов путем нуклеофильного замещения 6-галогена на алкоксид [86]. Хотя замещение алкоголят-анионом атома галогена в пуриновом ядре нуклеозидов протекает легче для 6-производных по сравнению с 2- и 8-производными, тем не менее в случае лабильных пуринов дезоксиряда реакции замещения сопутствует апуринизация, в результате чего для дезоксигуанозина [80] и дезоксиинозина [87] выходы 6-O-алкилпроизводных не превышают 15—20%.

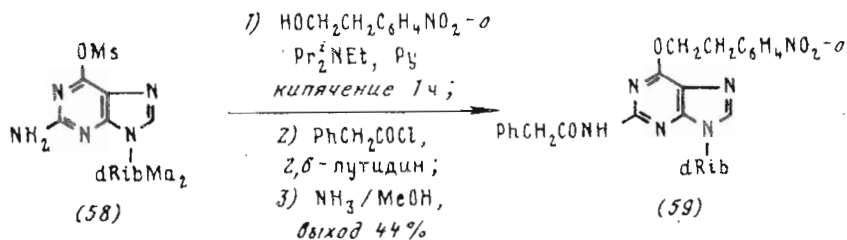
Удобный путь получения 6-O-алкилпроизводных включает в себя предварительный перевод нуклеозидов действием третичных аминов в 6-аммониевые производные (см. схему 16). Нуклеофильное замещение этой аммониевой группы алкоксильным остатком в присутствии DBU с образованием алкокси(арилокси)-производных типа (57) [82] и (58) [83] протекает гладко и завершается за несколько минут (схема 19).



Аналогичным образом в 6-положение дезоксигуанозина могут быть введены β -замещенные этильные группы (алкилпроизводные (57)), отщепление которых после завершения олигонуклеотидного синтеза может быть осуществлено в сравнительно мягких условиях, не затрагивающих межнуклеотидных связей [83] (см. раздел 7).

Действие спиртов на 4-О/6-О-TPS-производные нуклеозидов непосредственно, минуя стадию четвертичной аммониевой соли, для получения соответствующих О-алкильных производных едва ли целесообразно, поскольку нуклеофильное замещение при этом протекает предпочтительно не по 6-С, а по атому серы остатка арилсульфоокислоты с регенерацией исходной амид-лактамной функции. Например, соединение (59) можно получить в одну стадию, при действии нитрофенилэтанола непосредственно на 6-О-метилтенсульфонильное производное (58) (схема 20), что, однако, требует более жестких условий, чем в случае более длинного пути, при котором 4-О/6-О-TPS-производные предварительно переводят в аммониевую соль типа (50) [82].

Схема 20

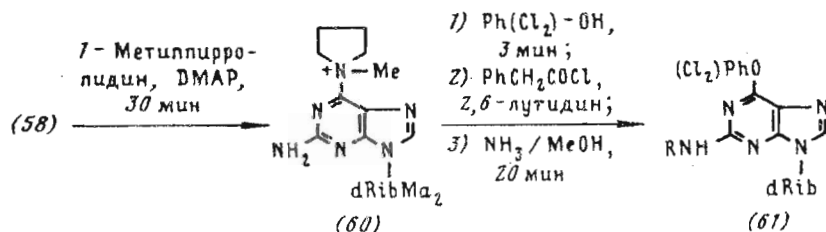


Для защиты 6-карбонила используют также 3,5-дихлорфенильную группу ($\text{Ph}(\text{Cl}_2)$), которую вводят действием 3,5-дихлорфенола на четвертичную N-метилпирролидиниевую соль ((60), схема 21) [62, 88, 89] (использование в этом ряду превращений 1-метилпирролидина позволяет избежать технических трудностей, связанных с летучестью триметилamina (ср. (50))). При действии спиртов на четвертичную соль (60) в присутствии DBU в среде ацетонитрила 6-положение гуанина гладко замещается и образуются 6-О-алкилпроизводные, например $\text{Ph}(\text{Cl}_2)$ -производное (61) (схема 21).

Получение 4/6-замещенных производных нуклеозидов взаимодействием пиридиниевых солей нуклеозидов с нуклеофилами

Номер соединения	R	Растворитель	Время реакции, ч	Выход, %
(62)	EtO-	Этанол	17	30
	Pr ⁱ O-	»	17	0
	PhS-	Вода	120	50
	-N ₃	»	17	Низкий
	EtS-	Вода — диоксан	17	50
	HOС ₂ H ₄ O-	Вода	120	85
	m-ClC ₆ H ₄ O-	(Pr ⁱ) ₂ EtN	17	75
(63)	p-NO ₂ C ₆ H ₄ O-	»	17	92
	»	»	17	85

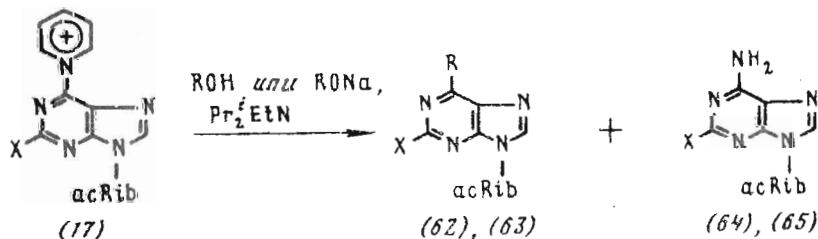
Схема 21



Для получения 4-О-замещенных уридина и тимидина (и соответственно N-замещенного цитидина) успешно используют также 4-(1-метил)имидазольные (20), триазольные (18), (19) и другие производные нуклеозидов и ароматических аминов (см. схемы 6, 8).

Реакционноспособными соединениями, содержащими четвертичную аммониевую группу, являются также пиридиниевые соли — 6-пиридилпроизводные гуанозина и инозина (17). Взаимодействием с производными (17) алкоголятов, меркаптанов, замещенных фенолов, азид натрия и других реагентов может быть введен по 6-О-положению ряд (тио)алкильных групп, а также азидная группа (производные (62), (63)) [54, 56, 60] (см. табл. 2) (схема 22); при этом образуются также 6-аминосоединения (64, 65).

Схема 22



Значения R см. в табл. 2

(17), (62), (64): X = IбNH; (63), (65): X = H

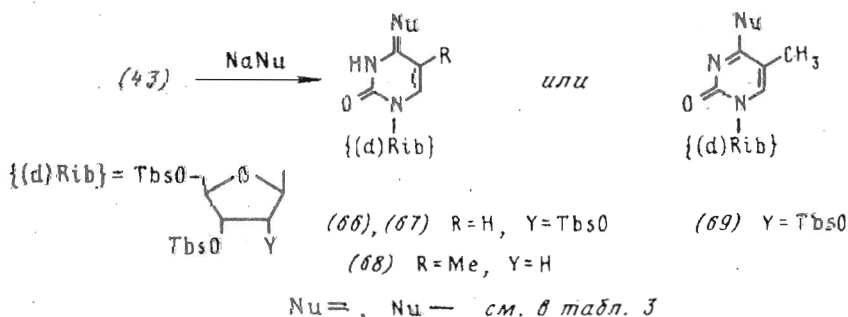
Взаимодействие 4-О-TPS-производных тимидина и 2'-TbsO-уридина (42), (43) с нуклеофилами (вторичными аминами и Na-производными псевдокислот)

Нуклеофил	Продукт замещения		Выход, %
	Номер соединения	Nu=, Nu-	
EtO ₂ CCH ₂ CO ₂ Et	(66)	(EtO ₂ C) ₂ C=	89
MeC(O)CH ₂ CO ₂ Et	(67)	MeC(O)CCO ₂ Et 	68
NCCH ₂ CO ₂ Me	»	NC ₂ CO ₂ Me 	94
PhCH ₂ CO ₂ Et	»	Ph ₂ CCO ₂ Et 	94
EtO ₂ CCH ₂ CO ₂ Et	(68)	(EtO ₂ C) ₂ C=	88
NCCH ₂ CN	»	(NC) ₂ C=	90
Et ₂ NH	(69)	Et ₂ N-	95
MeNHCH ₂ CH ₂ OH	»	MeNCH ₂ CH ₂ OH 	72

Для блокирования амид-лактамной функции уридина была использована также 2,2,2-трихлор-*трет*-бутилоксикарбонильная защита [88].

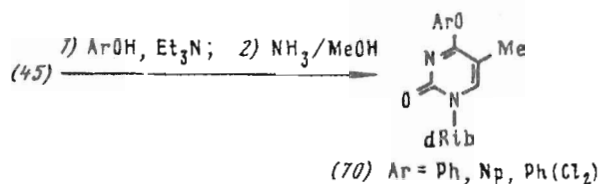
Успешно применяется нуклеофильное замещение в положение 4 пиримидинов при их взаимодействии с различными карбанионами. Таким путем, например, был получен ряд производных уридина и тимидина, в частности (66)–(68), замещенных в 4-положении диэтилмалонатом, ацетилацетатом, метилцианоацетатом и этилфенилацетатом или малононитрилом при взаимодействии Na-производных соответствующих псевдокислот (NaNu) с 4-О-сульфонильными производными нуклеозидов (43), (49) [79]. Аналогичным путем — взаимодействием производного (43) с вторичными аминами — диэтиламином и N-метилэтанол-амином с высокими выходами получены N-диалкил-5-метилпроизводные цитидина (69) [79] (табл. 3) (схема 23).

Схема 23



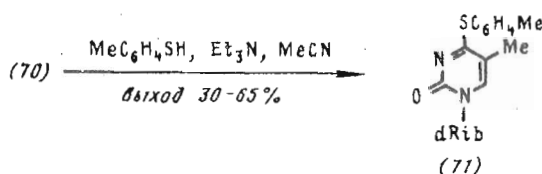
Для защиты 4-О-положения уридина и тимидина используют также другие алкильные и арильные группы [46, 89–91]. Например, действием различных фенолов на 4-триазолид тимидина (45) в 4-с положении были введены фенольная, нитрофенольная и 3,5-дихлорфенильная группы с образованием соединений (70) [46] (схема 24).

Схема 24



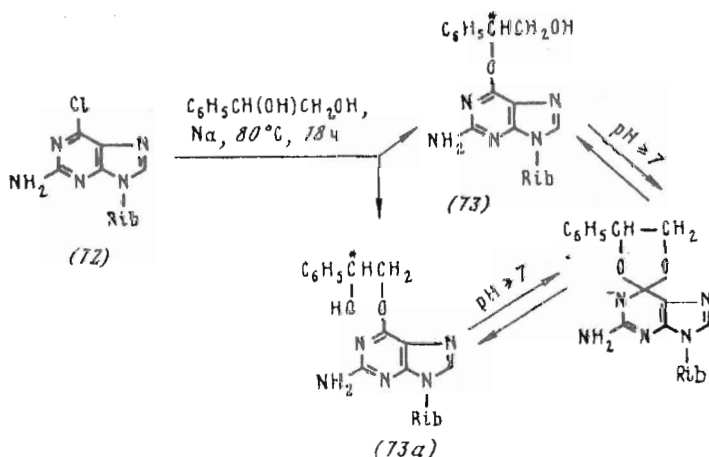
Последующее взаимодействие защищенных по амидной функции нуклеозидов (70) с *n*-тиокрезолом приводит в результате замещения арилоксигруппы к соответствующему сульфиду (71) [46] (схема 25).

Схема 25



Серия 6-О-алкилированных гуанозинов была синтезирована из 2-амино-6-хлорпуририбозида (72) при действии алкоглята, полученного из 1-фенил-1,2-этандиола [92] (схема 26).

Схема 26

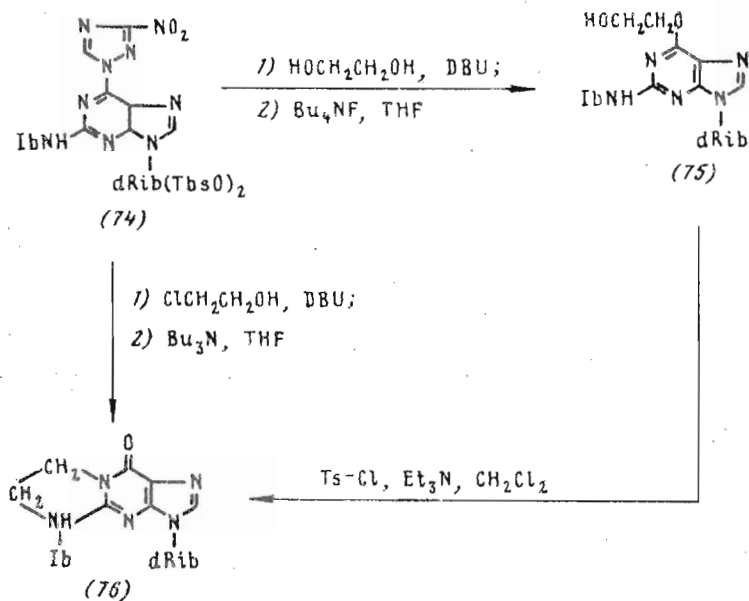


Полученные в индивидуальном виде четыре диастереомера (73) и (73а) могут служить моделью при изучении некоторых внутриклеточных превращений (например, катализируемой основаниями перегруппировки или катализируемого кислотами гидролиза), приводящих к расщеплению 6-О-эфирной связи продуктов 6-О-замещения гуанина в составе ДНК, образующихся (наряду с продуктами 7-*N*- и 2-*N*-замещения) при действии на ДНК стиролоксида [93]. Последний

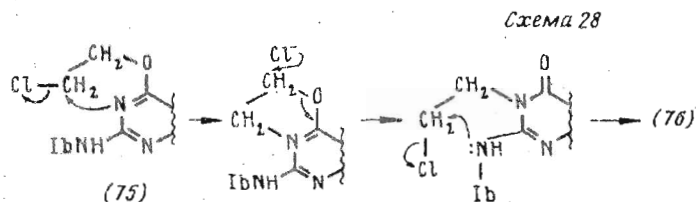
генерируется и накапливается в крови в результате метаболизма экологического загрязнителя — стирола и является активным мутагенным и канцерогенным фактором [94, 95].

Алкоголиз 6-азолида гуанозина этиленгликолем или этиленхлоргидрином в присутствии DBU использовали для введения в 6-е положение β -гидроксиэтильной и β -хлорэтильной групп (последнюю можно использовать для поперечных сшивок цепей ДНК [96, 97]). Введение β -гидроксиэтильной группы с образованием производного (75) протекает гладко, однако реакция с β -хлорэтанолом осложняется перегруппировкой с внутримолекулярным алкилированием с участием аминогруппы гуанозина, приводя к соединению (76) [97] (схема 27).

Схема 27



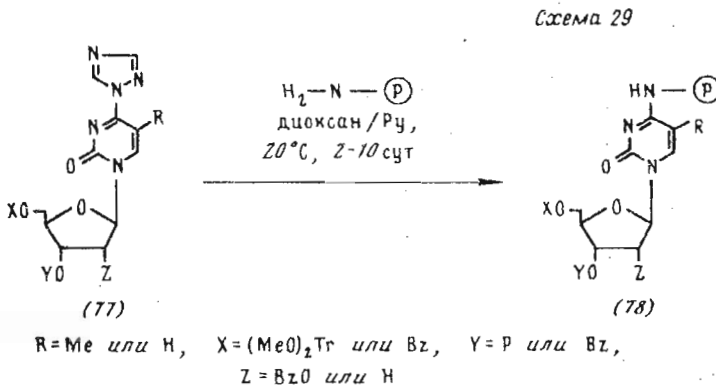
Предполагается следующий механизм этой перегруппировки [97] (схема 28).



Реакционную способность 4/6-триазолидов тимидина, уридина и гуанозина (77) можно использовать для пришивки, посредством реакции алкилирования через гетероциклическое основание, первого нуклеозидного (или нуклеотидного) звена к функционализированному аминогруппой полимерному носителю (соединение (78)) для последующего наращивания олигонуклеотидной цепи в твердофазном методе олигонуклеотидного синтеза (схема 29).

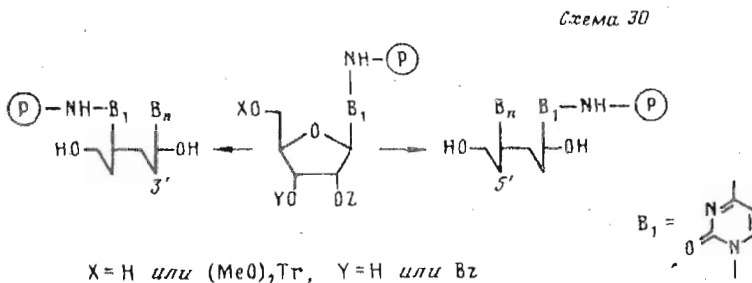
Иммобилизация нуклеозидов и нуклеотидов (78) через 4/6-амид-лактамную функцию гетероциклических оснований

Полимерный носитель	«Ножка»	Иммобилизованный нуклеозид/нуклеотид	Количество иммобилизованного нуклеозида/нуклеотида, моль/г
Полиакрилморфолин	1,10-Диаминодекан	$[(\text{MeO})_2\text{Tr}] \text{Thd}(\text{Bz})$	63
»	»	$[(\text{MeO})_2\text{Tr}] \text{Thd}P^*$	71
»	»	$(\text{Bz}) \text{Urd}(2'\text{Bz}, 3'P)$	29
»	1,2-Диаминоэтан	$[(\text{MeO})_2\text{Tr}] \text{Thd}P$	32
»	Спермин	$[(\text{MeO})_2\text{Tr}] \text{Thd}(\text{Bz})$	94
Силикагель (63—200 мкм)	3-Амино-1-пропанол	»	85
»	»	$[(\text{MeO})_2\text{Tr}] \text{Cyd}^{\text{Bz}}P$	16
САА—СРС 500А (125—177 мкм)	Алкиламин с длинной цепью	$[(\text{MeO})_2\text{Tr}] \text{Thd}(\text{Bz})$	25
»	»	$[(\text{MeO})_2\text{Tr}] \text{Urd}(2'\text{Bz}, 3'P)$	10

* $P = \text{OP}(\text{OPhCl})(\text{OEtCN})$.

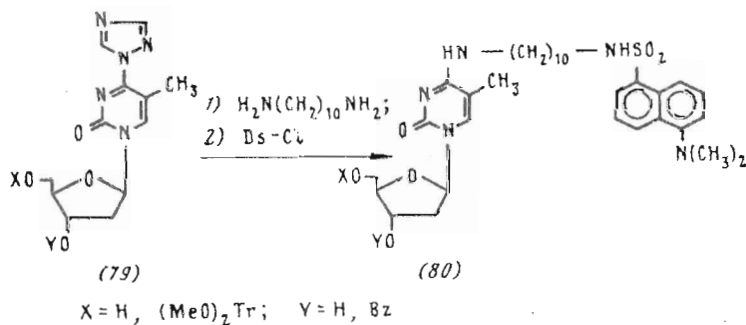
Иммобилизованные нуклеозиды и нуклеотиды, типы полимерных носителей и бифункциональные реагенты, использованные для их функционализации, приведены в табл. 4 [13].

Преимущество применения 4-карбонильной группы в качестве якорной по сравнению с традиционно используемыми для этой цели углеводными гидроксилами заключается в большей гибкости метода: олигонуклеотидную цепь при этом можно наращивать не только в обычном 3' → 5'-направлении, но, при необходимости, не меняя якорной группы, также и в 5' → 3'-направлении [13] (схема 30).



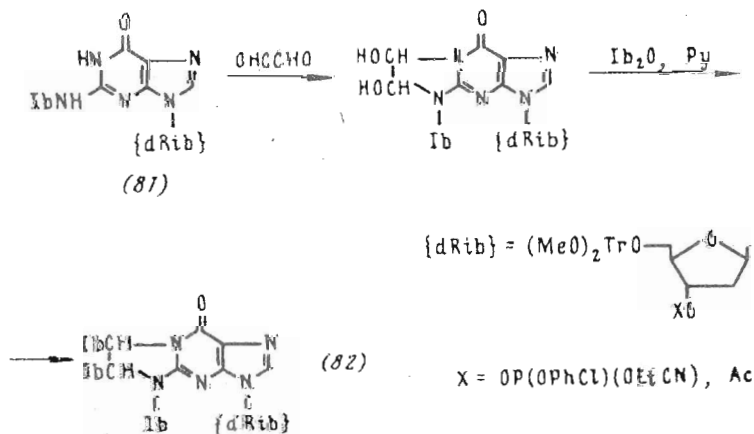
С помощью аналогичной последовательности превращений по 4-О-положению тимидина вводят некоторые группы для нерадиоактивного мечения олигонуклеотидов, например флуоресцентную дансильную группу (соединение (80)) [98] (схема 31).

Схема 31



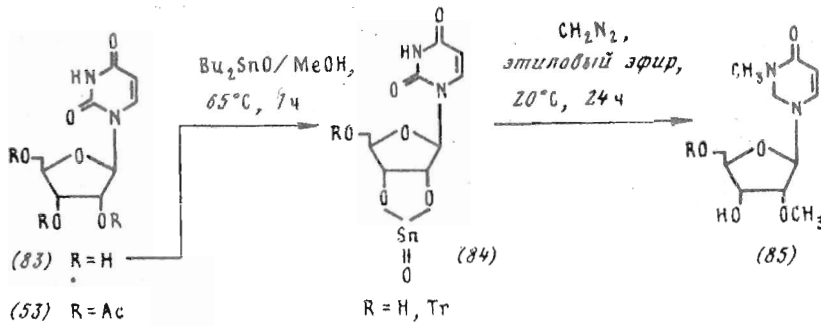
Другой подход к блокированию лактамной группировки состоит во введении защитной группы по атому азота кольца. Так, при действии глиоксаля на 2-N-изобутирилгуанозин (81) реакция протекает одновременно по 1-N- и 2-N-атомам с замыканием пятичленного кольца, фиксируемого в результате последующего изобутирирования с образованием диацилоксиэтиленового производного (82) [99] (схема 32).

Схема 32



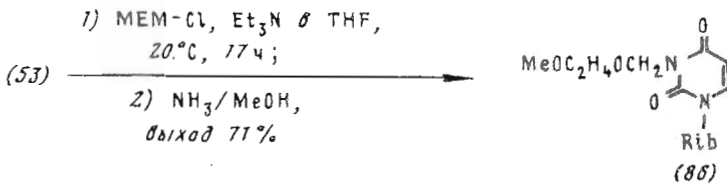
Использование такой защиты фиксирует лактамную таутомерную форму, исключая возможность смещения равновесия в сторону лабильной к реагентам олигонуклеотидного синтеза енольной формы.

Для получения из уридина (83) 3-N-производных (например, метилпроизводного (85)) используют соответствующие станнил-производные (84) [100, 101] (схема 33).



При алкилировании защищенного уридина (53) замещенными алкилхлоридами, например MEM-Cl [90], замещение, как и следовало ожидать, идет в положение 3 с образованием, после аммонолиза, соединения (86) (схема 34).

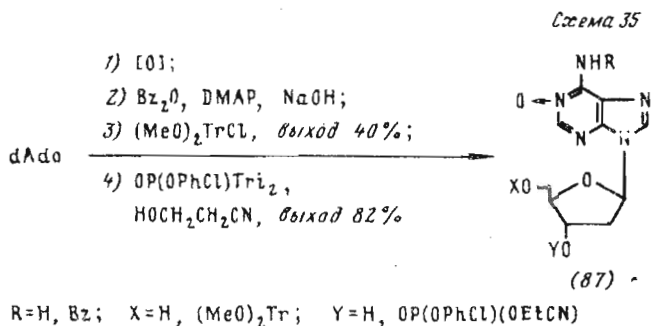
Схема 34



3', 5'-Гидроксилы можно при этом защищать не только ацильными или аралкильными остатками, но и 1,1,3,3-тетраизопропилдисиоксан-1,3-диильной (TIPDS) [102] или 1,1,3,3-тетра-(трет-бутоксидисиоксан-1,3-диильной) [103] группами (с помощью соответствующих дихлоридов — реагентов Маркевича), блокирование которых осуществляют действием Bu_4NF . 2'-Гидроксил при этом блокируют Bzl(OMe)-группой, которая устойчива к действию 80% $\text{CH}_3\text{CO}_2\text{H}$ (6 ч), Et_3N в CH_3CN (10 ч), 0,1 М раствора PAO [104, 105] (18 ч) и отщепляется при действии тритилфторбората TfBF_4 [106] в водном ацетонитриле (1 ч).

Ацилирование 4/6-амид-лактамной функции гетероциклических оснований является одним из источников побочных реакций, сопутствующих олигонуклеотидному синтезу. Примером может служить необратимая реакция апуринизации. Как известно, удалению пиксильной (9-фенил-9Н-ксантен-9-ильной) и тритильных защитных групп с 5'-гидроксила при действии протонных кислот обычно сопутствует побочная реакция гидролиза лабильной гликозидной связи в пуриновых нуклеозидах — апуринизация аденозина, гуанозина, инозина. При этом наличие ацильных защитных групп по экзо-аминогруппам нуклеиновых оснований, облегчающее протонирование N-7-положения, дополнительно способствует апуринизации [107, 108].

Однако введение электроакцепторной группы по N-1-положению пуринов [97, 99] (в меньшей степени это справедливо для N-3-производных пиримидинов [50, 109, 110]) оказывает противоположный эффект. Получение 1-N-производных по существу является одним из двух возможных вариантов модификации амид-лактамной функции. Снижение электронной плотности в гетероцикле способствует возрастанию устойчивости гликозидной связи к действию кислот [111]. Примером может служить синтез полученного окислением дезоксиаденозина [112, 113] триэфирного синтона (87) [111] (схема 35).



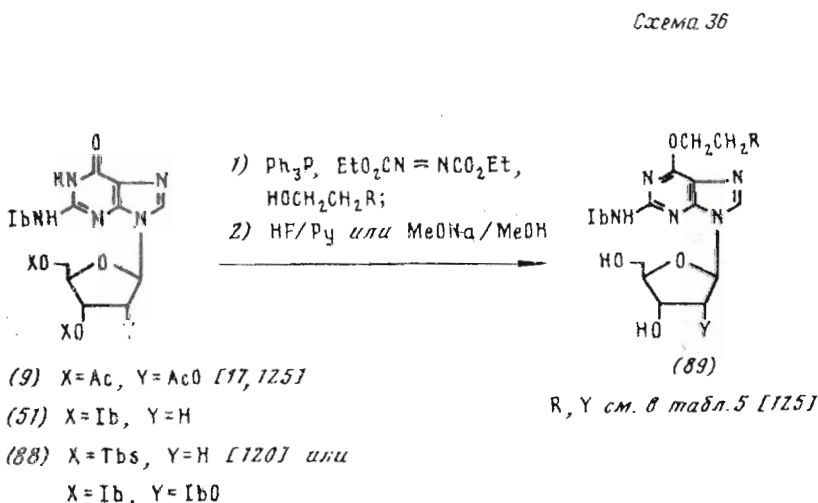
1-N-Модифицированный синтон аденозина (87) совершенно нечувствителен к 2% раствору бензолсульфокислоты в СНСl₃/MeOH, т. е. в условиях, при которых происходит расщепление гликозидной связи в пуринах [111].

Восстановление N-оксида после завершения синтеза осуществляют общими методами восстановления соединений этого типа: действием силанов [114—117], триметилфосфита в метаноле [118, 119] или в присутствии хлорида церия [111].

5. Алкилирование амид-лактамной функции по Митсунобу и Михаэлю

Выше мы рассмотрели метод получения 4/6-алкилпроизводных нуклеозидов и нуклеотидов путем ряда превращений амид-лактамной функции: фосфорилирования или арилсульфонилирования 4/6-положения, последующего замещения четвертичной аммониевой группой или азолами и, наконец, замещения последних на алкильную группу. К существенно иным методам алкилирования амидной функции относится замещение по Митсунобу — Джонсу и присоединение по Михаэлю.

Первая из этих реакций заключается во взаимодействии амидной группы защищенных нуклеозидов, например (9), (51), (88), с соответствующим спиртом в присутствии азодикарбонового эфира и трифенилфосфина [17, 120—125] (см. табл. 5 и схему 36).

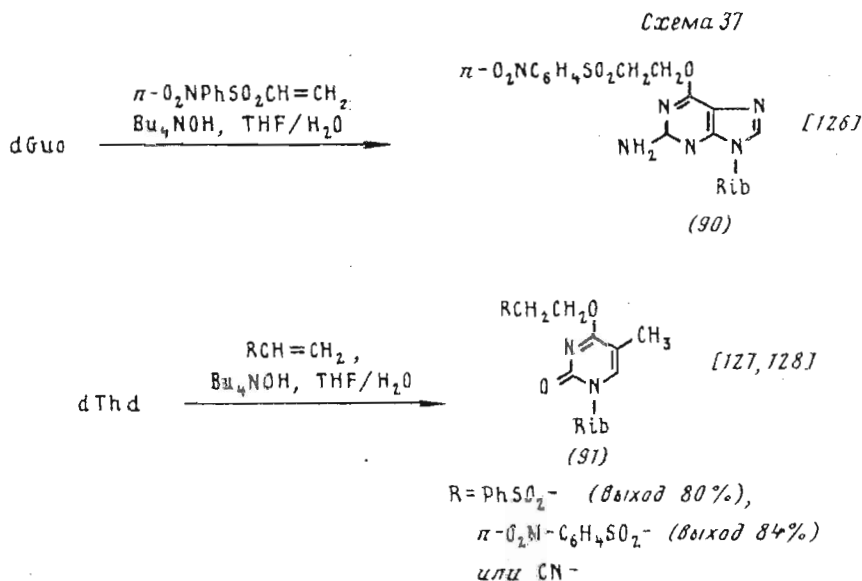


Эффективным способом 4-О/6-О-алкилирования нуклеозидов является также нуклеофильное присоединение нуклеозидов к β-замещенным олефинам в при-

Алкилирование 4/6-амид-лактамной функции нуклеозидов реакцией Митсунобу — Джонса

Исходное соединение	Продукт алкилирования (89)		Выход, %	Литература
	R	Y		
(71)	$n\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{CH}_2\text{CH}_2\text{-}$ $n\text{-O}_2\text{NC}_6\text{H}_4\text{SCH}_2\text{CH}_2\text{-}$	H »	80 40	120—122, 126 »
(9)	DMPM	OH	80	132, 147
(88)	Me Et Bzl $\text{CH}_2 = \text{CHCH}_2\text{-}$ $\text{CH}\equiv\text{CCH}_2\text{-}$	» » » » »	40 64 62 42 35	123 » » » »
(51)	Pr^i Me Et Pr^f	» H » »	82 35 95 96	» » » »

судствии сильных оснований (реакция Михаэля). Этим путем амидную функцию защищают такими β -замещенными этильными группами, как фенолсульфонил-этильная, n -нитрофенилсульфонилэтильная и цианэтильная с образованием соединений (90) и (91) (схема 37).



Эти производные можно синтезировать также, хотя и с меньшим выходом, через 4-триазолиды, образующиеся из ацетилированных уридина и тимидина при действии фосфо-триазиолоида по аналогии с работой [62] (см. схему 10), а также с работами [46, 50, 52, 54] (см. схемы 6 и 8). Закрепление таутомерной енольной формы в таких соединениях в результате O-алкилирования находит отражение в ИК-спектрах, где в области карбонильных частот вместо сложного набора полос остаются две полосы, при 1710 и 1660 см^{-1} , отнесенные к $\nu(\text{C}=\text{O})$ и $\nu(\text{C}=\text{N})$ [129].

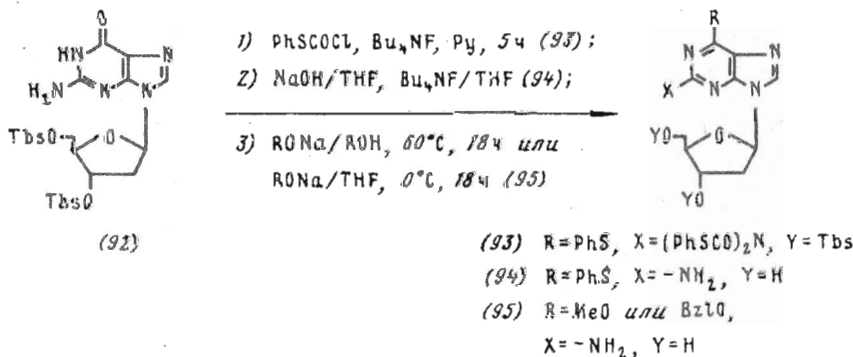
6. Ацильные защитные группы

Введение алкильных заместителей по 4-О/6-О-положению основания можно осуществить путем ацилирования с последующим замещением 4-О/6-О-ацильной группы соответствующим алкилом. Таким путем обычно удается получать лишь производные, содержащие незамененные алифатические радикалы: замещение осуществляется в слишком жестких условиях (при действии соответствующего алкоголята), чтобы для этой цели годились лабильные спирты (например, β-замещенный этанол), а в случае устойчивых фенолятов их нуклеофильности не хватает для замещения ацильной группы.

Оказалось, что у ряда производных угольной кислоты PhCH₂OCOR (R = Cl, 1-имидазолил, 1-пиримидинийтетрафторборат) нуклеофильность карбонильного кислорода недостаточна для ацилирования лактамной функции [130, 131].

В то же время производные монотиоугольной кислоты для такой реакции достаточно активны. Возникающие при взаимодействии защищенного по углеводному остатку гуанозина (92) с фенилхлортиоформиадом производное (93) декарбоксилируется, образуя 6-фенилтиопроизводное (94), а при действии алкоглятов получают продукты 6-О-алкилирования (95) [130, 131] (схема 38).

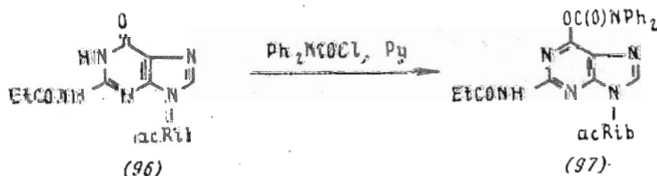
Схема 38



По сравнению с относительно лабильной бензильной защитой (95) [130, 131], удаление которой осуществляют в мягких условиях (1 ч с *o*- или *n*-нитробензальдоксиматом тетраметилгуанидиния в диоксане [46]), большее распространение получила более устойчивая 3,4-диметоксибензильная защита (2,5 ч с теми же реагентами) [46, 132].

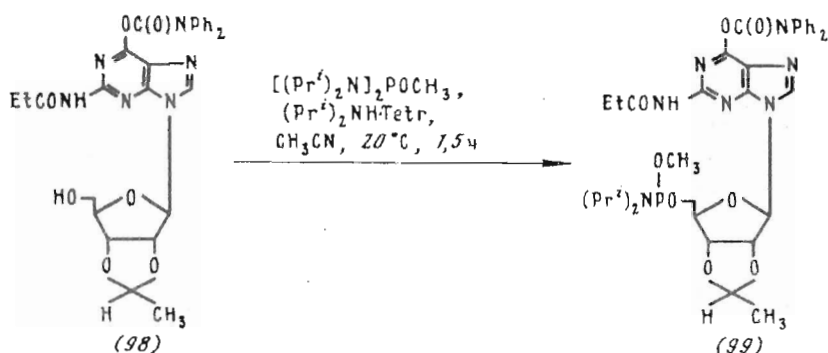
Некоторое применение в химии нуклеотидов нашла дифенилкарбамоильная группа, которая, обладая высокой липофильностью, придает нуклеозиду довольно высокую растворимость в органических растворителях и способность проявляться при ТСХ с помощью дифениламина в виде полубого пятна, а также устойчива в ходе олигонуклеотидного синтеза (в отличие от крайне лабильной диметилкарбамоильной группы). Введение дифенилкарбамоильной группы с образованием Дрс-производного (97) осуществляется действием соответствующего хлорангирида в пиридине на защищенный гуанозин (96) [133, 134] (схема 39).

Схема 39



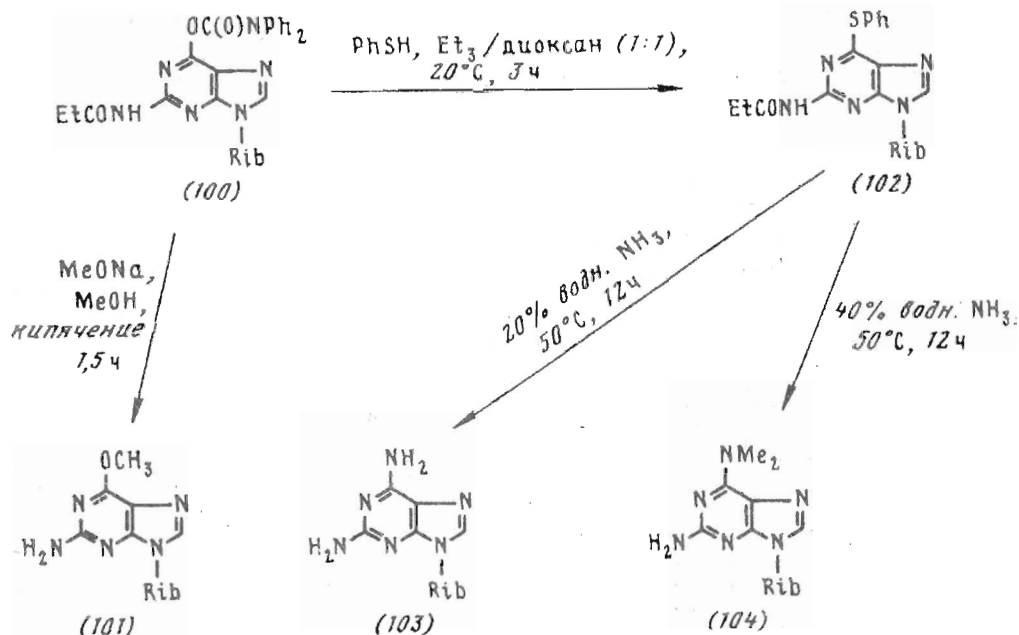
Высокий выход на стадии межнуклеотидной конденсации был достигнут при использовании 5'-фосфамидита защищенного G^{Dpc} (99), полученного в результате взаимодействия защищенного G^{Dpc} (98) с бис(диизопропиламино)метоксифосфином и тетразолидом диизопропиламмония [135] (схема 40).

Схема 40



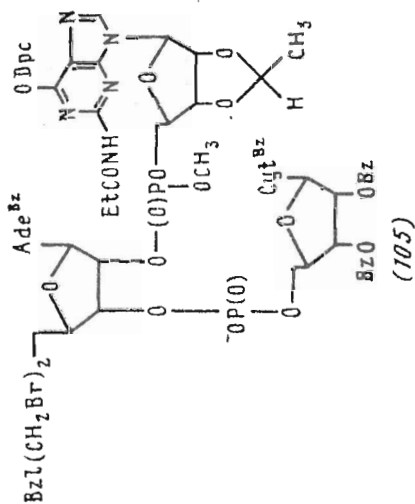
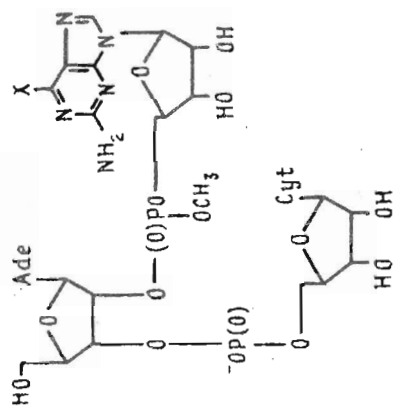
Действием различных реагентов дифенилкарбаматную группу замещают на такие группы, как метоксильная или тиофенильная (соединения (101, 102), схема 41; ср. (71) на схеме 25), причем последнюю можно затем превратить в amino- (103) и диметиламиногруппы (104) [136]. Такие модификации основания легко осуществимы как для 2-N-защищенного гуанозина (100), так и для гуанозина в составе линейных или разветвленных рибоолигонуклеотидов — например, в составе тримера (105), полученного с использованием синтона (99) [136] (схема 42).

Схема 41



Этот тринуклеозиддифосфат с vicинальными 2', 5'- и 3', 5'-межнуклеотидными связями моделирует точку разветвления РНК в ходе сплайсинга и может быть, после модификации и деблокирования с образованием соединения (106),

Схема 42



1) 20% NH₃, 5ч, 20°C (OH),
или PhSH, Et₃N/диоксан,
20°C, 3ч (SPH, или
40% NMe₂, 55°C, 15ч (NMe₂);

2) 20% NH₃, 55°C, 15ч или
20% NH₃/Py (4:1),
55°C, 15ч

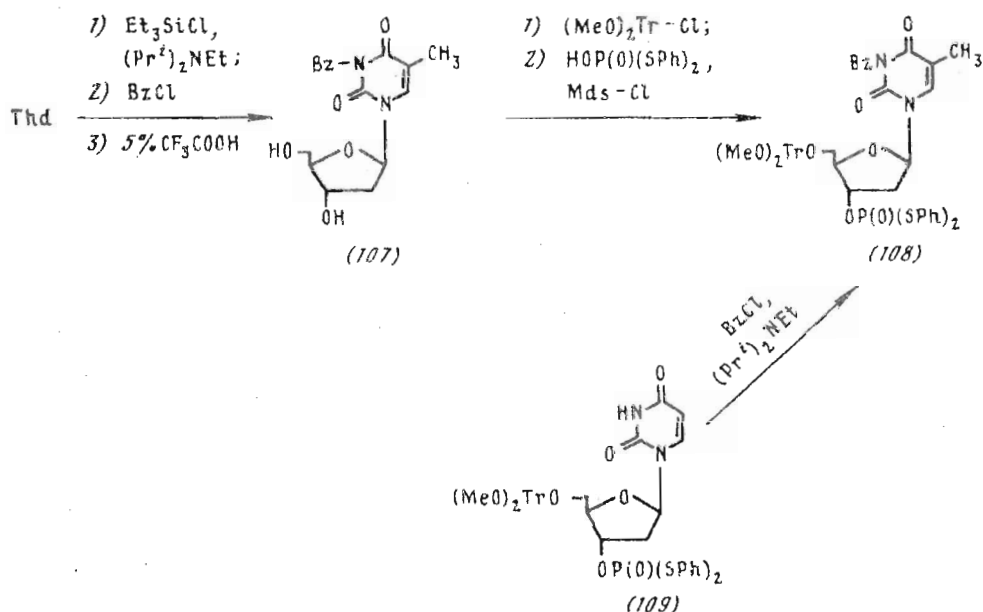
(106) X=OH, SPH, NMe₂

использован для избирательного связывания ферментов и антител, проявляющих специфическое сродство к таким сайтам [137].

При взаимодействии с TPS-Cl инозин арилсульфонируется по гетероциклическому атому азота в положении 1 [55].

Тимидин защищают по положению 3-N бензоильной группой [107] и используют для синтеза дитиопроизводного (108) [138]. Альтернативно соединения (108) получают бензоилированием соединения (109) (схема 43).

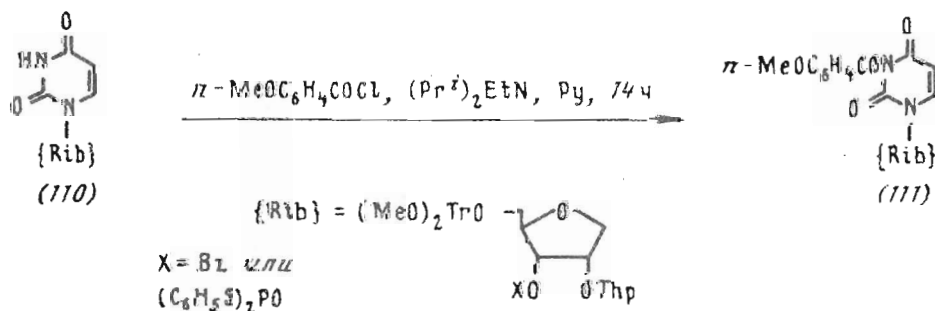
Схема 43



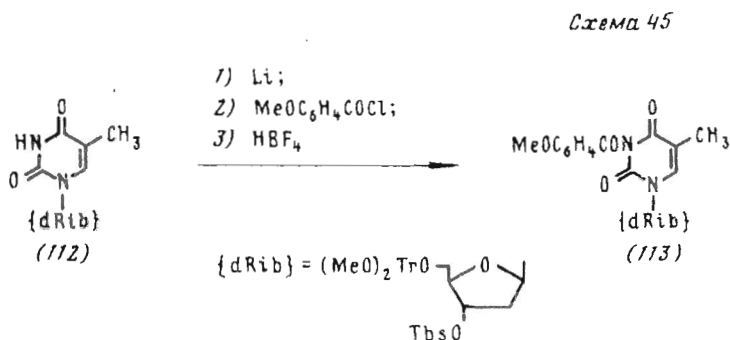
Межнуклеотидные конденсации в ряду тиоаналогов довольно капризны. С использованием соединения (108) были синтезированы динуклеозидфосфомонотиоаты, содержащие атом серы в несвязывающем межнуклеотидном фосфате, причем наличие 3-N-защиты обеспечивает 95% выход при межнуклеотидных конденсациях [138].

При ацилировании защищенного уридина или уридин-3'-дитиофосфата (110) также идет замещение по гетероциклическому атому азота с образованием соединения (111) [89, 109] (схема 44).

Схема 44



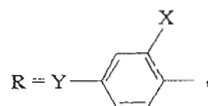
Для 3-N-ацетилизации тимидина можно также использовать 3-N-литиевое производное 3', 5'-защищенного нуклеозида (112) [139] (схема 45).



Модификация амид-лактамовой функции гуанина (6-O- и 1-N-положений) действием различных реагентов рассмотрена также в работах [140—145]; в частности, обсуждается окислительная модификация гуанозин-3'-фосфата [140] и модификация при действии нитрозомочевинны [141].

7. Удаление групп, служащих для модификации и защиты амид-лактамовой функции

β -Замещенные этильные группы RCH₂CH₂, где



при гидролитическом отщеплении под действием оснований располагаются в ряд, представленный в табл. 6 [17].

В качестве деблокирующих реагентов используют кислоты и основания Льюиса (ZnBr₂, Bu₄NF), сильные бициклические основания (DBU, DBN), окислитель (NaIO₄) и др. Некоторые из них представлены в табл. 7 [83].

Однако во многих случаях стандартные условия оказываются недостаточными для полного 4-O/6-O-деблокирования [45]. Например, общепринятые условия удаления 6-O-(β -нитрофенил)этильной группы с остатка гуанозина [83] (DBU, 2 ч при 20° С в CH₃OH) (табл. 7) при детальном изучении оказались недостаточно жесткими: определенная, хотя и невысокая, доля *n*-нитрофенилэтильных групп сохраняется в синтезированных олигонуклеотидах после их полного деблокирования, что не сказывается на их электрофоретической подвижности, но обнаруживается по неполноте гидролиза фосфодистеразой змеиного яда [45].

С другой стороны, следует иметь в виду, что при удалении по механизму β -элиминирования (например, действием DBU) β -замещенных этильных групп, служащих для защиты фосфата или, в виде алкоксикарбонильных производных, для защиты экзо-циклических аминогрупп (см., например, соединения (114)—(116)) [17] (схема 46), условия должны быть строго оптимизированы, чтобы предупредить побочную реакцию алкилирования 4-O/6-O-положения оснований образовавшимся олефином [65].

Относительная устойчивость 4-О/6-О-защитных β-замещенных этильных групп RCH₂CH₂O-

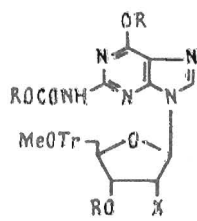
R	Деблокирующие реагенты
	<p>Et₃N</p> <p>DBU, DBN/CH₃OH</p> <p>Устойчив к действию всех деблокирующих реагентов</p>

Таблица 7

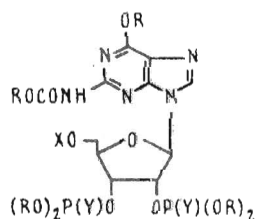
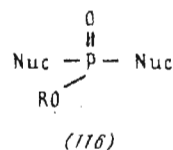
Условия удаления некоторых защитных β-замещенных этильных групп для 6-О-положения гуанозина

Соединение	6-О-Защитная группа	Реагенты для деблокирования					Выход, %
		NH ₄ OH	NaIO ₄	DBU	Bu ₄ NF	ZnBr ₂ /CH ₃ NO ₂	
(57)	Me ₃ SiCH ₂ CH ₂	—	—	—	5 мин	10 мин	65
	PhSCH ₂ CH ₂	50° C, 24 ч	6 ч	18 ч	—	—	81
	<i>n</i> -NO ₂ C ₆ H ₄ SCH ₂ CH ₂ -	50° C, 2 ч	24 ч	1 ч	—	—	75
	<i>n</i> -NO ₂ C ₆ H ₄ CH ₂ CH ₂ -	—	—	2 ч	—	—	75
	NCCH ₂ CH ₂ -	1 ч	—	10 мин	—	—	70

Схема 46



X = H, OR

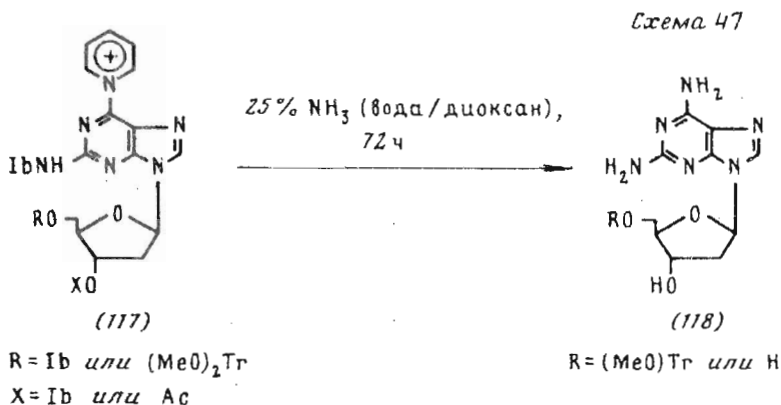
X = H, P(Y)(OR)₂, Y = O, SR = *p*-NO₂C₆H₄CH₂CH₂-

Nuc - нуклеозид

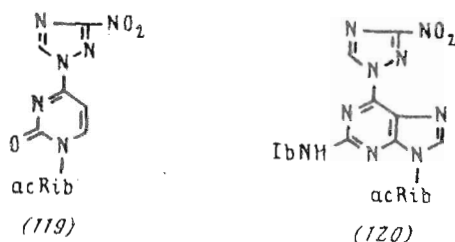
Удаление защитных групп с экзо-аминогрупп гетероциклических оснований традиционно осуществляется действием концентрированного водного аммиака.

При этом с остатка гуанозина гладко удаляются не только обычные ацильные, но также DIBE-[99] и Дрс-группы [133, 134]. Использование Дрс-группы по карбонилу гуанозина осложняется, если в ходе олигонуклеотидного синтеза используется метильная защита межнуклеотидного фосфата. Оказалось, что деметилирование фосфатов тиофенолом в присутствии триэтиламина сопровождается замещением Дрс-группы на PhS-остаток (см. раздел 6) с образованием аналога соединений (71), (102), (106) [136].

При аммонолизе 6-(триазол-1-ил)- [53, 54] и 6-(пиридин-1-ил)-(N-пиридинового) [58] производных гуанозина молекула аммиака атакует α -атом пиридина (триазола) с разрывом гетероцикла. В обоих случаях (но, по-видимому, по различным механизмам) атом кислорода в 4/6-положении гуанозина замещается на аминогруппы, в результате чего карбонильная функция исходного нуклеозида, например 6-карбонильного предшественника соединения (117), частично или полностью превращается в енаминную (118) [58] (схema 47) (ср. (103) [136], схема 47).



Напротив, если перед аммонолизом соединений (14), (17), (19), (22), (119) и (120) подвергнуть их действию оксимат-иона, происходит частичное или полное регенерирование исходных нуклеозидов [46, 75, 51]. Например, при обработке РАО (104, 105) 4/6-(3-нитро-1,2,4-триазол-1-ил)-производных ацетилированных уридина (119) и гуанозина (120) 4/6-лактаманная функция может быть частично регенерирована с образованием исходных нуклеозидов, причем реагент должен быть взят в избытке. Таким путем 6-пиридиниевое производное (17) переводят в исходный инозин, а аналогичное производное гуанозина (21) — в исходный гуанозин [51]. Напротив, при эквимолярном соотношении соединения (17) и оксимата 6-лактаманная функция трансформируется в енаминную с образованием аденозина [55].



Регенерация 4/6-амид-лактаманной функции при взаимодействии 4/6-азолил-производных урацила, тимина и N-ацетилгуанина с оксимат-ионом отмечается в работах [50, 54].

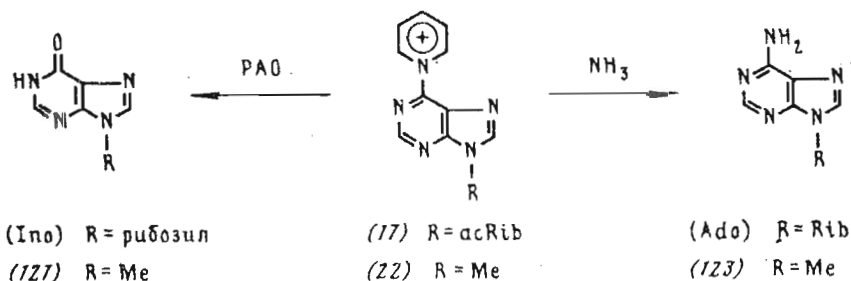
Взаимодействие 4/6-пиридинильных и азольных производных нуклеозидов с альдоксимат-анионом и водным NH₃

Условия деблокирования	Исходные соединения				
	(117)	(14)	(20)	(17)	(120)
	Продукты деблокирования, выход, %				
РАО с последующим действием NH ₃	Guo, 100	Cyd, 51	Cyd, 62	Ino, 73	Guo, 88
Конц. NH ₃	2IbNHAdo, 60 2NH ₂ Ado, 40	Urd, 49 Cyd, 95 Urd, 5	Urd, 38 Cyd, 96 Urd, 4	Ado, 16 Ado, 100 —	2IbNHAdo, 12 2IbNHAdo, 80 2NH ₂ Ado, 20

В то же время при обработке соединений (17), (21), (22), (119), (120), а также N-метилмидазольных производных (20), (23) аммиаком амид-лактаманная функция преимущественно превращается в 6-енаминную [51] (табл. 8).

При аммонолизе 6-пиридиниевого производного полностью ацетилированного инозина (17) или 9-метилгипоксантина (122) происходит замещение 6-кислорода исходного гетероцикла на 6-аминогруппу [55]; отмечено также образование окрашенных продуктов реакции. Использование оксимат-иона (не более чем в 5-кратном избытке) частично (на 50%) регенерирует амид-лактаманную функцию исходного гетероцикла. Можно было ожидать, что при увеличении количества оксимата, как и в рассмотренных выше случаях [55, 50], будет возрастать соотношение инозин/аденозин, как и 9-метилгипоксантин (121)/9-метиладенин (123). Однако оказалось, что при этом образуются исключительно продукты аминирования — аденозин и 9-метиладенин (123) [55] (схема 48).

Схема 48



Наконец, удаление 6-O-защитных бензильных групп (например, диметокси-бензильной группы) осуществляется окислением дихлордицианхиноном [88, 146].

Заключение

Существующие инения о целесообразности дополнительной защиты амид-лактаманной функции нуклеиновых оснований в ходе олигонуклеотидного синтеза довольно противоречивы.

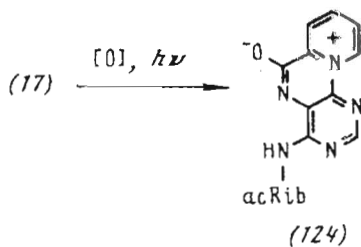
Среди множества работ, посвященных олигонуклеотидному синтезу, в подавляющем большинстве случаев авторы, преследуя чисто практические синтетические цели, вообще обходят вопрос о защите амид-лактаманной функции. Лишь в очень немногих публикациях прямо указывается на отсутствие необходимости в дополнительной защите 6-O-положения гуанозина. Количественным анализом с использованием высокоэффективной обращенно-фазовой хроматографии (ве-

личина погрешности составляла 0,5%) было показано, что AcdG^{1b}, иммобилизованный на СРГ и подвергнутый 25 циклам фосфамидитной конденсации, не претерпевал никаких изменений [20]. Речь идет о ключевом исследовании [20, 21], в котором дана обоснованная оценка причин появления модифицированного гуанина в ходе фосфамидитного синтеза с использованием цианэтильных синтонов. Было показано, что модификацию лактамной функции гуанинового основания в ходе синтеза удается обнаружить в том случае, когда в роли нуклеофильного катализатора при экпировании гидроксидов, не прореагировавших при фосфамидитных конденсациях, выступит DMAP. Действительно, замена DMAP на N-метилимидазол снимает проблему модификации лактамной группы при экпировании и тем самым при получении конечного продукта синтеза. Это означает, что если фосфамидитная конденсация, приводящая к образованию связи между нуклеозидными остатками, сопровождается 6-О-фосфитилированием, то последствия этой побочной реакции можно устранить, добившись практически полной регенерации лактамной функции путем правильного подбора последовательности стадий экпирования и окисления.

С другой стороны, многие авторы (например, [73, 74, 147, 148]) указывают на различные модификации оснований в ходе олигонуклеотидного синтеза и соответственно на необходимость защиты положений 4-О/6-О (например, [45, 87, 134, 147, 149—151]).

Попытка оценить степень побочных реакций амид-лактамной функции с реагентами триэфирного метода олигонуклеотидного синтеза была сделана в работе [83]. Для сравнения устойчивости к действию конденсирующих реагентов 2-N,3',5'-O-триизобутирилгуанозин 3', 5'Ib₂Guo^{1b} и серия его аналогов (57), в которых 6-О-положение дополнительно защищено одной из β-замещенных этильных групп (CH₂CH₂X, где X = SiMe₃, PhS-, -SC₆H₅NO₂, -C₆H₅NO₂, CN), были параллельно подвергнуты действию 5-кратного избытка ряда конденсирующих реагентов: Ms-Tetr, Ms-NIm, TPS-Tetr и смеси TPS-Cl с Tetr. Оказалось, что 6-О-производные не изменяются в условиях, когда 3', 5'Ib₂Guo^{1b} деградирует почти полностью. В той же работе [83] отмечено, что, хотя некоторые из фосфорилированных и сульфонилированных по амид-лактамной функции производных Urd, Thd и Cyd на стадии удаления защит с синтезированного олигонуклеотида могут превращаться в исходные нуклеозиды, в большинстве случаев они тем не менее дают полярные окрашенные соединения, сильно загрязняющие нуклеотидный материал [83]. Показано также, что образующееся из ацетилированного инозина (9) при действии фосфорилирующего агента в среде пиридина пиридиновое производное (17) на свету претерпевает дальнейшие глубокие превращения, образуя нуклеозид (124) с новым гетероароматическим сильно флуоресцирующим бетаином в качестве агликона — три-О-ацетил-люминарозин [152] (схема 49).

Схема 49



Авторы работы [43] указывают на очень низкие выходы гуанозинового синтона, полученных без использования дополнительной 6-О-защиты.

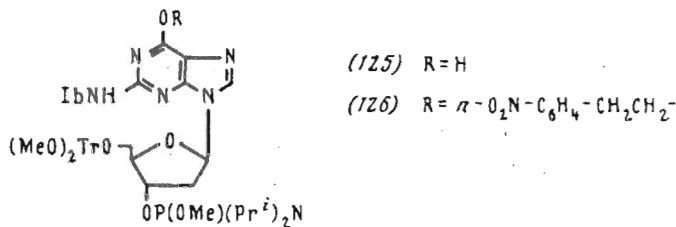
Для осуществления межнуклеотидных конденсаций, применяя активный конденсирующий реагент — трис(2,4,6-трибромфенокси)дихлорофосфоран, авторы работы [3] использовали 3-N-бензоилтимидин для предупреждения реакции по положению 4. Для синтеза 3'-фосфонатов также использовали Thd^{Bz} и 2EtCONHGuo^{Dpc} [153].

Естественно, степень деградации нуклеозидов возрастает с увеличением длины синтезируемой цепи из-за увеличения продолжительности числа циклов взаимодействия вещества с конденсирующими реагентами, что может привести к резкому падению сквозного выхода [83]. Так, авторы отмечают, что, когда не используются защиты для Guo и Urd или реагенты (например, оксимат-ион) для регенерирования нуклеозидов и продуктов их модификации, выход синтезированных G-богатых последовательностей оказывается крайне низким [45, 87].

Другим примером может служить синтез 150-звенных олигонуклеотидов фосфамидитным твердофазным методом (межнуклеотидный фосфат защищен в виде метилового эфира): при этом наблюдалась побочная реакция 3-метилирования тимидина, причем 3-N-метилтимидиновые остатки оказываются равномерно распределенными по полинуклеотидной цепи. Количество 3-N-метилтимидина можно оценить, анализируя профиль разделения мономеров обращенно-фазовой хроматографией после полного фосфодиэстеразного гидролиза олигонуклеотида [154].

Хлорфосфиты и 3'-фосфамидиты нуклеозидов взаимодействуют с лактамной функцией гуанина, что является причиной крайне низких выходов при синтезе G-богатых последовательностей [45]. Модифицированные нуклеозиды апурируются с последующим расщеплением межнуклеотидной связи с образованием более коротких фрагментов, поэтому в последних циклах синтеза олигонуклеотидов, содержащих в цепи свыше 15—20 гуанозиновых звеньев, целевая последовательность в реакционной смеси содержится лишь в следовых количествах.

Этот факт проиллюстрирован сопоставлением результатов ряда синтезов твердофазным фосфамидитным методом G-богатых олигонуклеотидов с использованием фосфамидита (125) и соответствующего 6-нитрофенилэтильного производного (126) [45].



Электрофоретический анализ показал, что полинуклеотиды d[(Cp)₂₃C], d[(Ap)₂₃A] и d[(Tp)₂₃T] синтезированы исходя из мономера (126) с высоким сквозным выходом и соответственно проявляются в геле в виде практически единственной полосы. Если же для синтеза d[(Gp)₂₃G] использовался мономер (125), целевой олигонуклеотид не удавалось выделить из реакционной смеси даже в следовых количествах. Аналогичная картина наблюдалась при синтезе G-богатого 36-мера CGCGGGGTGGAGCAGCCTGGTAGCTCGTCCGGCTCA: при использовании в качестве G-синтона нитрофенилэтильного (Npe) производного (126) выход и чистота целевого продукта намного выше, чем в случае (125).

Следует отметить удачный синтез G- и T-богатых олигонуклеотидов, содержащих мутагенное основание 4-O-этилтимин (см. схему 11), с использованием 4-O/6-O-нитрофенилэтильной защиты гетероциклических оснований. Осуществить этот синтез без использования дополнительной нитрофенилэтильной защиты не удалось [146].

Вопрос о необходимости дополнительной защиты еще острее стоит при синтезе

соединений риборяда, где из-за стерических препятствий, создаваемых защищенной 2'-ОН-группой, продолжительность конденсаций возрастает. Например, триэфирному синтезу нонарибонуклеотида GUAUUAAUA сопутствовала значительная модификация Uга и Gua; введение же дополнительной Дрс-защиты по 6-О-атому гуанозина и анизоильной по 3-N уридина оказалось крайне эффективным и резко повысило выход на стадии межнуклеотидных конденсаций [134]. Используют эти группы также в работах [4, 155]. Значительное возрастание выхода целевого продукта и полное подавление побочных реакций при синтезе олигорибонуклеотидов с использованием 4/6-защитных групп отмечают также авторы работ [146, 156]. Подобных примеров можно привести множество. Существенно само наличие большого числа работ, посвященных реакциям амид-лактамной функции.

С широким распространением триэфирного метода синтеза олигонуклеотидитиоатов — аналогов ДНК с двумя атомами серы взамен несвязывающих атомов кислорода межнуклеотидного фосфата [157] — время межнуклеотидных конденсаций (и тем самым время воздействия на нуклеотидный материал конденсирующего реагента (TPS-Cl и N-метилимидазола)) пришлось увеличить на порядок. В известной степени это относится также к олигонуклеотидтиоатам [138] (см. схему 43). При этом в связи с большой биологической перспективностью соединений этого типа проблема 4/6-защиты приобретает первостепенное значение.

В заключение следует подчеркнуть, что довольно многие работы из числа рассмотренных в обзоре указывают на целесообразность и даже необходимость дополнительной защиты амид-лактамной функции уридина, тимидина, гуанозина и инозина в ходе нуклеотидного синтеза и предлагают различные способы введения и удаления этих защит.

Описанные выше превращения иллюстрируют аспект химии компонентов нуклеиновых кислот, ранее почти не изучавшийся. Потребность в таком изучении возникла с введением в практику олигонуклеотидного синтеза высокоактивных реагентов и с исключением промежуточных очисток в ходе наращивания нуклеотидной цепи на твердофазном носителе. Был обнаружен ряд превращений нуклеиновых оснований, которые могут быть источником осложнений как непосредственно в ходе синтеза, снижая чистоту и выход целевых продуктов, так и по его завершении, когда 4/6-модификации могут вызывать те или иные мутации, и разработаны подходы, в какой-то мере предотвращающие эти осложнения. Таким образом, практические потребности — необходимость повысить выход целевого олигонуклеотида — привели к разработке еще одного раздела химии компонентов нуклеиновых кислот.

Автор выражает благодарность Ю. А. Берлину и В. Н. Добрынину (ИБХ, Москва) за критическое чтение рукописи.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Stawinski J., Hozumi T., Narang S. A., Bahl C. P., Wu R.*//Nucl. Acids Res. 1977. V. 4. № 2. P. 353—371.
2. *Matsuzaki J., Hotoda H., Sekine M., Hata T.*//Tetrahedron Lett. 1986. V. 27. № 46. P. 5645—5648.
3. *Hotoda H., Wada T., Sekine M., Hata T.*//Tetrahedron Lett. 1987. V. 28. № 15. P. 1681—1684.
4. *Kamaike K., Hasegawa Y., Ishido Y.*//Tetrahedron Lett. 1988. V. 29. № 6. P. 647—650.
5. *Duckworth M. L., Gait M. J., Goelet P., Hong G. F., Singh M., Titmas R. C.*//Nucl. Acids Res. 1981. V. 9. № 9. P. 1691—1699.
6. *Ito H., Ike Y., Itakura K.*//Nucl. Acids Res. 1982. V. 10. № 4. P. 1755—1768.
7. *Efimov V. A., Reverdatto S. V., Chakhmakhcheva O. G.*//Nucl. Acids Res. 1982. V. 10. № 15. P. 6675—6683.
8. *Efimov V. A., Chakhmakhcheva O. G., Ovchinnikov Yu. A.*//Nucl. Acids Res. 1985. V. 13. № 8. P. 3651—3665.
9. *Froehler B. C., Matteucci M. D.*//J. Amer. Chem. Soc. 1985. V. 107. № 1. P. 278—284.

10. Sproat B. S., Rider P., Beijer B.//Nucl. Acids Res. 1986. V. 14. № 4. P. 1811—1823.
11. Sekine M., Hata T.//J. Org. Chem. 1987. V. 52. № 3. P. 946—951.
12. Tanaka T., Orita M., Uesugi S., Ikehara M.//Tetrahedron. 1988. V. 44. № 14. P. 4133—4138.
13. Pochet S., Huynh-Dinh T., Igolet J.//Tetrahedron. 1987. V. 43. № 15. P. 3481—3490.
14. Sproat B. S., Brown D. M.//Nucl. Acids Res. 1985. V. 13. № 8. P. 2979—2987.
15. van Boom J. H.//Heterocycles. 1977. V. 7. P. 1197—1202.
16. Reese C. B.//Tetrahedron. 1978. V. 34. № 14. P. 3143—3153.
17. Pfleiderer W., Schwarz M., Schirmeister H.//Chem. scr. 1986. V. 26. P. 147—154.
18. Narang S. A., Hsiung H. M., Brousseau R.//Meth. Enzymol. 1979. V. 68. P. 90—98.
19. Chaudhuri B., Reese C. B., Weclawec K.//Tetrahedron Lett. 1984. V. 25. № 36. P. 4037—4040.
20. Andrus A., Efcawitch J. W., McBride L. J., Giusti B.//Tetrahedron Lett. 1988. V. 29. № 8. P. 861—864.
21. Eadie I. S., Davidson D. S.//Nucl. Acids Res. 1987. V. 15. № 18. P. 8333—8349.
22. Beaucage S. L.//Tetrahedron Lett. 1984. V. 25. № 4. P. 375—378.
23. Jäger A., Engels J.//Tetrahedron Lett. 1984. V. 25. № 12. P. 1437—1440.
24. Lee H. J., Moon S. H.//Chem. Lett. 1984. P. 1229—1234.
25. Fourrey J. L., Varenne J.//Tetrahedron Lett. 1984. V. 25. № 16. P. 1963—1966; *ibid.* 1984. V. 25. P. 4511—4514.
26. Sinha N. D., Biernat J., McManus J., Köster H.//Nucl. Acids Res. 1984. V. 12. № 10. P. 4539—4546.
27. Nielson J., Marugg J. E., van Soom J. H., Honnens J., Taagaard M., Dahl O.//J. Chem. Res. 1986. P. 26—34.
28. Beaucage S. L., Caruthers M. H.//Tetrahedron Lett. 1981. V. 22. № 15. P. 1859—1862.
29. McBride L. J., Caruthers M. H.//Tetrahedron Lett. 1983. V. 24. № 2. P. 145—148.
30. Sinha N. D., Bierant J., Köster H.//Tetrahedron Lett. 1983. V. 24. № 49. P. 5843—5846.
31. Adam S. P., Kavka K. S., Wykes E. J., Holder S. B., Guluppi G. R.//J. Amer. Chem. Soc. 1983. V. 105. № 3. P. 661—669.
32. Doper T., Winnacker E. L.//Nucl. Acids Res. 1983. V. 11. № 6. P. 2575—2582.
33. Marugg J. E., Dreef C. E., van der Marel, van Boom J. H.//Recueil trav. chim. Pays-Bas. 1984. V. 103. P. 97—106.
34. Tanaka T., Tamatsukuri S., Ikehara M.//Nucl. Acids Res. 1986. V. 14. № 14. P. 6265—6269.
35. Caruthers M. H., Dellinger D., Prosser K., Barone A. D., Dubendorff J. W., Kiercek R., Rosendahl M.//Chem. scr. 1986. V. 26. P. 25—30.
36. Matteucci M. D., Caruthers M. H.//J. Amer. Chem. Soc. 1981. V. 103. № 11. P. 3185—3190.
37. Tanaka T., Letsinger R. L.//Nucl. Acids Res. 1982. V. 10. № 7. P. 3249—3255.
38. Dorper T., Winnacker E. L.//Nucl. Acids Res. 1983. V. 11. № 6. P. 2575—2583.
39. Sinha N. D., Biernat J., McManus J., Köster H.//Nucl. Acids Res. 1984. V. 12. № 10. P. 4539—4544.
40. Tanaka T., Fujino K., Tamatsukuri S., Ikehara M.//Chem. Pharm. Bull. 1986. V. 34. № 10. P. 4126—4135.
41. Smith L. M., Kaiser K. J., Sanders J. Z., Hood L. E.//Method in Enzymology. Recombinant DNA. Part F. V. 155/Ed. R. Wu. N. Y.: 1987. P. 260—301.
42. Dorman M. A., Nobile S. A., McBride L. J., Caruthers M. H.//Tetrahedron. 1984. V. 40. № 1. P. 95—104.
43. Sekine M., Matsuzaki J., Satoh M., Hata T.//J. Org. Chem. 1982. V. 47. № 3. P. 571—573.
44. Daskalov H. P., Sekine M., Hata T.//Tetrahedron Lett. 1980. V. 21. № 38. P. 3899—3902.
45. Pon R. T., Damha M. J., Ogilvie K. K.//Nucl. Acids Res. 1985. V. 13. № 18. P. 6447—6465.
46. Reese C. B., Skone Ph. A.//J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1984. № 6. P. 1263—1271.
47. Sung W. L., Narang S. A.//Can. J. Chem. 1982. V. 60. № 1. P. 111—120.
48. Ohtsuka E., Jamane A., Ikehara M.//Nucl. Acids Res. 1983. V. 11. № 5. P. 1325—1335.
49. Patel T. P., Chouny M. A., Millican T. A., Bose C. E., Eaton M. A.//Nucl. Acids Res. 1984. V. 12. № 17. P. 6853—6859.
50. Sung W. L.//J. Org. Chem. 1982. V. 47. № 19. P. 3623—3628.
51. Adamiak R. W., Biala E., Gdaniec Z., Mielewczyk S., Skalski B.//Chem. scr. 1986. V. 26. P. 3—6, 7—11.
52. Divakar K. J., Reese C. B.//J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1982. V. 5. P. 1171—1176.

53. Sung W. L.//J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1981. № 22. P. 1089—1090.
54. Sung W. L.//Nucl. Acids Res. 1981. V. 9. № 22. P. 6139—6151.
55. Adamiak R. W., Biala E., Skalski B.//Nucl. Acids Res. 1985. V. 13. № 8. P. 2989—3003.
56. Skalski B., Adamiak R. W., Paszyc S.//Nucl. Acids Sympos. Ser. 1984. V. 14. P. 293—294.
57. Huynh-Dinh T., Langlois D., Estaintot B., Allard P., Igolen J.//Tetrahedron Lett. 1985. V. 26. № 4. P. 431—434.
58. Chollet A., Chollet-Demerius A., Kawashima E. H.//Chem. scr. 1986. V. 26. P. 37—40.
59. Mielewicz S., Gdaniec Z., Bobrowska G., Adamiak R. W.//Nucleosides and Nucleotides. 1987. V. 6. № 1—2. P. 273—277.
60. Gdaniec Z., Adamiak R. W.//Proceeding of the 2nd International Symposium on Phosphorus Chemistry Directed Towards Biology. Biophosphates and their Analogues — Synthesis, Structure, Metabolism and Activity//Eds Bruzik K. S., Stec W. G. Lodz, Poland: Elsevier Science Publishers B. V. Amsterdam — Printed in the Netherlands. 1986. P. 47—53.
61. Adamiak R. W., Biala E., Skalski B.//Angew. Chem. Int. Ed. Engl. 1985. V. 24. P. 1054—1060.
62. Jones S. S., Reese C. B., Sibanda S., Ubasawa A.//Tetrahedron Lett. 1981. V. 22. № 47. P. 4755—4781.
63. Reese C. B., Richard K. H.//Tetrahedron Lett. 1985. V. 26. № 18. P. 2245—2248.
64. Borowy-Borowski H., Chambers R. W.//Biochemistry. 1987. V. 26. P. 2465—2471.
65. Fernandez-Fornier D., Palom Y., Ikuta S., Pedroso E., Eritja R.//Nucl. Acids Res. 1990. V. 18. № 19. P. 5729—5734.
66. Sanger B., Kusmierek J. T.//Ann. Rev. Biochem. 1986. V. 52. P. 655—693.
67. Saffhill R., Margison G. P., O'Connor P. J.//Biochim. et biophys. acta. 1985. V. 823. P. 111—145.
68. Pegg A. E.//Adv. Cancer Res. 1977. V. 25. P. 195—269.
69. Li B. F., Reese C. B., Swann P. F.//Biochemistry. 1987. V. 26. P. 1086—1092.
70. Borowy-Borowski H., Chambers R. W.//Biochemistry. 1989. V. 28. P. 1471—1477.
71. Daskalov H. P., Sekine M., Hata T.//Bull. Chem. Soc. Jap. 1981. V. 54. № 10. P. 3076—3083.
72. Robins M. J., Uznanski B.//Can. J. Chem. 1981. V. 54. P. 2601—2607.
73. Reese C. B., Ubasawa A.//Nucl. Acids Sympos. Ser. 1980. № 7. P. 5—21.
74. Ogilvie K. K.//Nucl. Acids Res. 1985. V. 13. № 18. P. 6447—6453.
75. Reese C. B., Ubasawa A.//Tetrahedron Lett. 1980. V. 21. № 20. P. 2265—2268.
76. Takaku H., Yamaguchi R., Nomoto T., Hata T.//J. Chem. Lett. 1979. № 7. P. 811—814.
77. Takaku H., Yoshida M.//J. Org. Chem. 1981. V. 46. № 3. P. 589—593.
78. Bridson P. K., Markiewicz W. T., Reese C. B.//J. Chem. Soc. Chem. Commun. 1977. № 13. P. 447—448. *ibid.* № 21. P. 791—792.
79. Bishofberger N.//Tetrahedron Lett. 1987. V. 28. № 25. P. 2821—2824.
80. Mehta J. R., Ludlum D. B.//Biochim. et biophys. acta. 1978. V. 521. № 2. P. 770—778.
81. Zhou X. X., Welch C. J., Chattopadhyaya J.//Acta chem. scand. 1986. Ser. B. B. 40. № 10. P. 806—816.
82. Gaffney B. L., Jones R. A.//Tetrahedron Lett. 1982. V. 23. № 22. P. 2253—2256.
83. Gaffney B. L., Jones R. A.//Tetrahedron Lett. 1982. V. 23. № 22. P. 2257—2260.
84. Kraszewski A., Delort A. M., Teoule R.//Tetrahedron Lett. 1986. V. 27. № 8. P. 861—864.
85. DNA Methylation, Biochemistry and Biological Significance/Eds Rasin A., Cedar H. Springer Verlag, 1984.
86. Gerster J. F., Jones J. W., Robins R. K.//J. Org. Chem. 1963. V. 28. № 4. P. 945—948.
87. Robins M. J., Basom C. L.//Can. J. Chem. 1973. V. 51. № 19. P. 3161—3169.
88. Kamimura T., Masegi T., Hata T.//J. Chem. Lett. 1982. № 7. P. 965—968.
89. Kamimura T., Masegi T., Urakami K., Honda S., Sekine M., Hata T.//J. Chem. Lett. 1983. № 7. P. 1051—1054.
90. Takaku H., Ueda S., Oto Ts.//Tetrahedron Lett. 1983. V. 24. № 48. P. 5363—5366.
91. Kiriasis L., Farkas S., Pfeleiderer W.//Nucleosides and Nucleotides. 1986. V. 5. P. 517—522.
92. Moschel R. C., Hemminki K., Dipple A.//J. Org. Chem. 1986. V. 51. № 15. P. 2952—2955.
93. Hemminki K., Hesso A.//Carcinogenesis. 1984. V. 5. P. 601—607.
94. Vanio J., Paakkonen R., Ronnholm K., Raunio V., Pelkonen O.//Scand J. Environ. and Health. 1976. V. 3. P. 147—151.
95. Sugiura K., Goto M.//Chem.-Biol. Interact. 1981. V. 35. P. 71—91.

96. Maggio A. F., Lucas M., Barascut J. L., Imbach J. L.//Tetrahedron Lett. 1984. V. 25. № 30. P. 3195—3198.
97. Maggio A. F., Lucas M., Barascut J. L., Imbach J. L.//Nucleosides and Nucleotides. 1987. V. 6. № 1, 2. P. 469—470.
98. Sarfati S. R., Pochet S., Guerreiro C., Namane T., Huynh-Dinh T., Igolen J.//Tetrahedron. 1987. V. 43. № 15. P. 3491—3497.
99. Sekine M., Matsuzaki J., Hata T.//Tetrahedron Lett. 1982. V. 23. № 50. P. 5287—5290.
100. Tanimura H., Sekine M., Hata T.//Tetrahedron Lett. 1986. V. 27. № 34. P. 4047—4050.
101. Pathak T., Chattopadhyaya J.//Chem. scr. 1986. V. 26. P. 135—139.
102. Markiewicz W. T.//Chem. scr. 1986. V. 26. P. 123—125.
103. Markiewicz W. T., Navakowska B., Adrych K.//Tetrahedron Lett. 1988. V. 29. № 13. P. 1561—1564.
104. Reese C. B., Titmas R. C., Yau L.//Tetrahedron Lett. 1978. № 30. P. 2727—2730.
105. Reese C. B., Zard L.//Nucl. Acids Res. 1981. V. 9. № 18. P. 4611—4626.
106. Vorbuggen H.//Nucleosides Analogues — Chemistry, Biology and Medical Application. Plenum Press, 1979. P. 16—43.
107. Carret R. R., Mehta P. J.//J. Amer. Chem. Soc. 1972. V. 94. № 24. P. 8532—8541.
108. York J. L.//J. Org. Chem. 1981. V. 46. № 10. P. 2171—2173.
109. Kamcike K., Hasegawa Y., Ishido Y.//Nucleosides and Nucleotides. 1988. V. 7. № 1. P. 37—43.
110. Katagiri N., Itacura K., Narang S. A.//J. Amer. Chem. Soc. 1975. V. 97. № 25. P. 7332—7335.
111. Morin Ch.//Tetrahedron Lett. 1983. V. 24. № 1. P. 53—56.
112. Maki Y., Suzuki M., Kameyama K., Sako M.//Chem. Commun. 1981. P. 658.
113. York J. L.//J. Org. Chem. 1981. V. 46. № 10. P. 2171.
114. Katritzky A. R., Lagowski J. M.//Chemistry of Heterocyclic N-Oxides. L., N. Y.: Acad. Press, 1971. P. 170.
115. Barton D. N., Beugelmans R., Young R. N.//Nouv. J. Chim. 1978. V. 2. № 4. P. 363—364.
116. Hortmann A. G., Koo J., Yu C. C.//J. Org. Chem. 1978. V. 43. № 11—12. P. 2289—2291.
117. Homaidan F. R., Issidorides C. H.//Heterocycles. 1981. V. 16. № 3. P. 411—415.
118. Dirlam J. P., McFarland J. W.//J. Org. Chem. 1977. V. 42. № 8. P. 1360—1364.
119. Kaneko C., Yamamoto A., Gomi M.//Heterocycles. 1979. V. 12. № 2. P. 227—230.
120. Jones R.//J. Org. Chem. 1986. V. 51. № 5. P. 755—758.
121. Trichtinger T., Charubala R., Pfleiderer W.//Tetrahedron Lett. 1983. V. 24. № 7. P. 711—714.
122. Himmelsbach F., Shulz B. S., Trichtinger T., Charubala R., Pfleiderer W.//Nucleosides and Nucleotides. 1987. V. 6. № 1, 2. P. 529—531.
123. Shulz B. S., Pfleiderer W.//Nucleosides and Nucleotides. 1987. V. 6. № 1, 2. P. 535—538.
124. Mitsunobu O.//Synthesis. 1981. P. 1—4.
125. Himmelsbach F., Shulz B. S., Trichtinger T., Charubala R., Pfleiderer W.//Tetrahedron. 1984. V. 40. № 1. P. 58—72.
126. Engels J. W., Nag M.//Nucleosides and Nucleotides. 1987. V. 6. № 1, 2. P. 473—475.
127. Teesler G. L.//Tetrahedron Lett. 1985. V. 26. № 32. P. 3859—3862.
128. Pistorius A. M., Claesen C. A., Kremer F. J., Kijk E. A., Tesser C. I.//Nucleosides and Nucleotides. 1987. V. 6. № 1, 2. P. 389—390.
129. Claesen C. A., Pistorius A. M., Tesser G. I.//Tetrahedron Lett. 1985. V. 26. № 32. P. 3859—3862.
130. Watkins B. E., Rappoport H.//J. Org. Chem. 1982. V. 47. № 23. P. 4471—4477.
131. Watkins B. E., Kiely J. S., Rappoport H. J.//J. Amer. Chem. Soc. 1982. V. 104. № 21. P. 5702—5708.
132. Takaku H., Ueda S., Tomita Y.//Chem. Pharm. Bull. 1984. V. 32. P. 2885—2892.
133. Kamimura T., Tsuchiya M., Koura K., Sekine M., Hata T.//Tetrahedron Lett. 1983. V. 24. № 27. P. 2775—2778.
134. Kamimura T., Tsuchiya M., Urakami K., Koura K., Sekine M., Shinozakimiura K., Hata T.//J. Amer. Chem. Soc. 1984. V. 106. № 16. P. 4552—4557.
135. McBride L. J., Kierzek R., Beaucage S. L., Caruthers M. H.//J. Amer. Chem. Soc. 1986. V. 108. P. 2040.
136. Huss S., Gosselin G., Imbach J. L.//J. Org. Chem. 1988. V. 53. № 3. P. 499—506.
137. Padgett R. A., Grabowski P. J., Konarska M. M., Seiler S., Sharp P. A.//Annu. Rev. Biochem. 1986. V. 55. P. 1119.
138. Matsuzaki J., Hotoda H., Sekine M., Hata T.//Tetrahedron Lett. 1984. V. 25. № 36. P. 4019—4022.

139. *Fuju M., Nogai H., Sekine M., Hata T.*//Tetrahedron Lett. 1987. V. 28. № 13. P. 1435—1438;
Gorey E. G., Gras J. L., Ulrich P.//Tetrahedron Lett. 1976. V. 17. № 11. P. 809—812.
140. *Rosier J., Van Peteghem C.*//J. Chromatogr. 1988. V. 434. № 1. P. 222—227.
141. *Parker S., Kirk M. C., Ludlum D. B., Koganty R. R., Lown J. W.*//Biochem. and Biophys. Res. Commun. 1986. V. 139. № 1. P. 31—36.
142. *Seela F., Driller H.*//Nucleosides and Nucleotides. 1989. V. 8. № 1. P. 1—21.
143. *McGuinness B. F., Nakanishi K., Lipman R., Tomasz M.*//Tetrahedron Lett. 1988. V. 29. № 9. P. 4673—4676.
144. *Droogmans L., Grosjean H.*//EMBO J. 1987. V. 6. № 2. P. 477—483.
145. *Browska A., Kulikowska E., Darzynkiewicz E., Shugar D.*//J. Biol. Chem. 1988. V. 263. № 19. P. 9212—9217.
146. *Takaku H., Imai K., Fujii T.*//Chem. scr. 1986. V. 26. P. 185—189.
147. *Jones S. S., Sibouda S.*//Current Trends in Organic Synthesis/Ed. Noraki H. Oxford: Pergamon Press, 1983. P. 81—93.
148. *Gan X., Gaffney B. L., Senior M., Riddle R. R., Jones R. A.*//Nucl. Acids Res. 1985. V. 13. № 2. P. 573—584.
149. *Pon R. T., Damha M. J., Ogilvie K. K.*//Tetrahedron Lett. 1985. V. 26. № 21. P. 2525—2528.
150. *Shulz B. S., Pfeleiderer W.*//Tetrahedron Lett. 1983. V. 24. P. 3587—3591.
151. *Jones S. S., Rayner B., Reese C. B., Ubasawa A., Ubasawa M.*//Tetrahedron. 1980. V. 36. № 21. P. 3075—3085.
152. *Skalski B., Bartoszewicz J., Paszyc S., Gdaniec Z., Adamiak R. W.*//Tetrahedron. 1987. V. 43. № 43. P. 3955—3961.
153. *Sekine M., Narui S., Hata T.*//Tetrahedron Lett. 1988. V. 29. № 9. P. 1037—1040.
154. *McBride L. J., Eadie J. C., Efcovitch J. W., Andus W. A.*//Nucleosides and Nucleotides. 1987. V. 6. № 1. P. 491—493.
155. *Tanimura H., Fukasawa T., Sekine M., Hata T., Efcovitch J. W., Zon G.*//Tetrahedron Lett. 1988. V. 29. № 5. P. 577—578.
156. *Trichtinger T., Charubala R., Pfeleiderer W.*//Tetrahedron Lett. 1983. V. 24. № 2. P. 221—224.
157. *Yau E. K., Ma Y. X., Caruthers M. H.*//Tetrahedron Lett. 1990. V. 31. № 14. P. 1953—1956.

Поступила в редакцию
22.III.1990
После доработки
29.XII.1992

M. O. Taktakishvili

REACTIONS OF 4/6-AMIDE-LACTAME FUNCTION OF NUCLEIC BASES

Department of Chemistry, Tbilisi University, Tbilisi

Reactivity of the amide-lactame function of nucleic bases under various conditions, methods of its activation, protection, deprotection and modification have been considered. Expediency of the function's protection in oligonucleotide synthesis is discussed.