



УДК 547.963.32 + 543.422.25

СИНТЕЗ ДЕКАДЕЗОКСИРИБОНУКЛЕОТИДА,
КОМПЛЕМЕНТАРНОГО ПОСЛЕДОВАТЕЛЬНОСТИ 1—10
ДРОЖЖЕВОЙ ВАЛИНОВОЙ тРНК_L, В УСЛОВИЯХ СТАБИЛИЗАЦИИ
АНИЛИДНОЙ ЗАЩИТЫ КОНЦЕВОГО 5'-ФОСФАТА

Бадаликеева А. Г., Кнорре Д. Г., Шубина Т. Н.

*Новосибирский институт органической химии
Сибирского отделения Академии наук СССР*

Синтезирован декадезоксирибонуклеотид d(pC-C-A-C-G-A-A-C-C) с использованием анилидной защиты концевого 5'-фосфата и триизопропилбензолсульфохлорида в качестве конденсирующего реагента в условиях стабилизации фосфоамидной связи. Синтез осуществлен по схеме 2 + 1 + 2 + 2 + 3. Синтезированный декапуклеотид комплементарно связывается с 5'-половиной дрожжевой тРНК_L^{Val}.

Синтетические олигодезоксирибонуклеотиды, несущие на 5'-конце фосфатную группу, имеют важное значение как промежуточные продукты для получения фрагментов генов путем соединения их в комплементарных комплексах [1], а также для получения комплементарно адресованных реагентов, несущих на своем 5'-конце реакционноспособную группу [2, 3]. Удовлетворительных химических методов фосфорилирования концевой 5'-оксигруппы олигонуклеотидов не существует, и единственный удобный способ введения 5'-концевого фосфата — ферментативное фосфорилирование с помощью полинуклеотидкиназы [1, 4]. Поэтому целесообразно проведение синтеза олигонуклеотидов с использованием в качестве 5'-концевого компонента 5'-нуклеотида с защищенной фосфатной группой.

Одной из наиболее доступных и удобных защитных групп является ариламидная группа, устойчивая в щелочной среде в условиях отщепления 3'-ацетильной защиты [5, 6]. Описан синтез дезоксиолигонуклеотидов с использованием анилидной и *n*-броманилидной защитных групп [7]. Однако при применении защиты такого типа вследствие ее кислотолабильности происходит частичное деблокирование 5'-концевого фосфата, если в качестве конденсирующих реагентов используются арилсульфохлориды.

Нами было показано [8], что это затруднение может быть преодолено путем добавления в реакционную смесь вместе с нуклеозидным компонентом триэтиламина в количестве, достаточном для нейтрализации образующейся арилсульфокислоты и пиридинийхлорида.

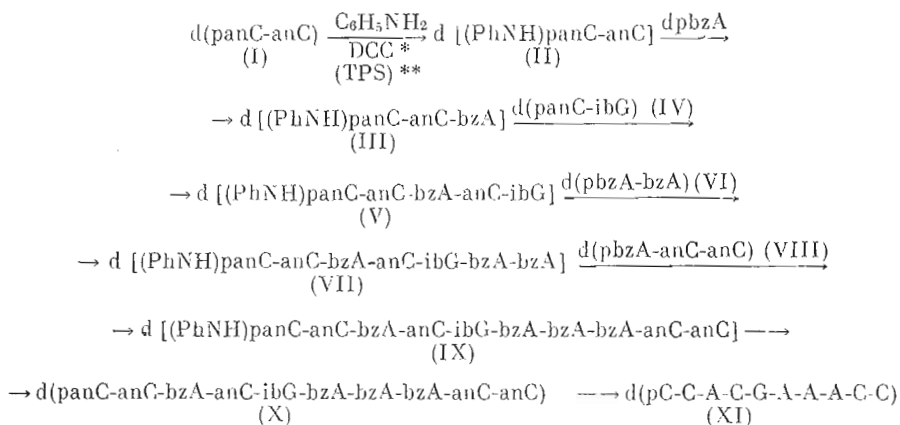
В работе использована система сокращений и символов, рекомендованная комиссией IUPAC — IUB (1971) *J. Mol. Biol.*, 55, 299. Прочие сокращения: ib — изобутирил.

В настоящей работе описывается синтез декадезоксирибонуклеотида d(pC-C-A-C-G-A-A-A-C-C) с использованием анилидной защиты 5'-концевого фосфата и стабилизации защитной группы с помощью триэтиламина. Этот олигонуклеотид комплементарен участку 1—10 дрожжевой tРНК^{Val}, и синтез его является частью совместной работы, проводимой НИОХ СО АН СССР, Институтом биоорганической химии им. М. М. Шемякина АН СССР и межфакультетской лабораторией биоорганической химии МГУ [9].

При выборе схемы синтеза мы руководствовались двумя условиями, обеспечивающими ее рациональность: 1) в качестве нуклеотидного компонента на всех стадиях должны использоваться по возможности только моно- и динуклеотиды, которые являются в настоящее время коммерчески доступными соединениями; 2) процесс разделения реакционных смесей после проведения каждой ступени конденсации должен быть основан в первую очередь на отличии заряда синтезируемого олигонуклеотида от зарядов исходных нуклеозидного и нуклеотидного компонентов и заряда пирофосфата — производного нуклеотидного компонента, поскольку таковые часто образуются как побочные продукты.

В качестве первой стадии синтеза предлагается получение тринуклеотида из анилида динуклеотида и защищенного мононуклеотида (2 + 1), поскольку при получении тетрануклеотида (2 + 2) побочный симметричный пирофосфат, который может образовываться из нуклеотидного компонента, имеет тот же заряд, что и синтезируемый тетрануклеотид, и затрудняет выделение целевого продукта. По аналогичной причине неприемлем в качестве общего метода синтез тринуклеотида из анилида мононуклеотида (в качестве нуклеозидного компонента) и динуклеотида (1 + 2), так как образующийся тринуклеотид совпадает по заряду с непрореагировавшим динуклеотидом. На дальнейших стадиях использование динуклеотидов в качестве нуклеотидного компонента не встречает такого рода затруднений. Для получения олигонуклеотидов с нечетным числом звеньев предлагаемая схема может быть записана как 2 + 1 + 2 + 2... Для синтеза олигонуклеотидов, содержащих четное число звеньев, в частности декануклеотида, удобно в качестве нуклеотидного компонента на последней стадии использовать тринуклеотид.

В работе учитываются также результаты проведенного нами исследования о строении активных производных динуклеотидов [10] и о преимущественной реакции этих производных по межнуклеотидным фосфодиэфирным группам по сравнению с реакцией по оксигруппе [11, 12].



* DCC — N,N'-дициклогексилкарбодимид.
 ** TPS — триэтилопропилбензолсульфохлорид.

Синтез декануклеотида осуществлен по приведенной схеме. Все конденсации проведены с использованием триизопропилбензолсульфохлорида с предварительной активацией нуклеотидного компонента. Нуклеотидный компонент брали по отношению к нуклеозидному в избытке $n + m + 1$, где n и m — число фосфатных остатков в нуклеозидном и нуклеотидном компоненте с учетом расходования активного производного на взаимодействие с фосфодиэфирными группами [11, 12]. Для активации нуклеотидного компонента применяли двукратные мольные избытки триизопропилбензолсульфохлорида в случае мононуклеотида и трехкратные — в случае динуклеотида. Синтез межнуклеотидной связи в каждом случае осуществляли в условиях стабилизации апилидной защиты концевой 5'-фосфата, добавляя рассчитанные количества триэтиламина. После хроматографического разделения реакционных смесей фракции, содержащие анилиды олигонуклеотидов, упаривали с *n*-бутанолом и метанолом и хранили на холоду также с добавлением триэтиламина для сохранения защиты. Выходы олигомеров в расчете на нуклеозидный компонент, вычисленные по данным микроколоночной ионообменной хроматографии реакционных смесей, были достаточно высокими: тринуклеотида — 80%, пентануклеотида — 60, гептануклеотида — 50, декануклеотида — 42% (см. таблицу).

Нуклеозидный компонент	Нуклеотидный компонент	[Нуклеозидный]/[нуклеотидный компонент], моль/моль	[TPS]/[нуклеотидный компонент], моль/моль	Продукт реакции	Выход* в расчете на нуклеозидный компонент, %
d [(P)NH)panC-anC] (II)	d pbzA(Ac)	1 : 4	2 : 1	d [(PhNH)panC-anC-bzA] (III)	80
d [(PhNH)panC-anC-bzA] (III)	d [panC-ibG (Ac)]	1 : 6	3 : 1	d [(PhNH)panC-anC-bzA-anC-ibG] (V)	60
d [(PhNH)panC-anC-bzA-anC-ibG] (V)	d [pbzA-bzA (Ac)]	1 : 8	3 : 1	d [(PhNH)panC-anC-bzA-anC-ibG-bzA-bzA] (VII)	50
d [(PhNH)panC-anC-bzA-anC-ibG-bzA-bzA] (VII)	d [pbzA-anC (Ac)]	1 : 15	4,5 : 1	d [(PhNH)panC-anC-bzA-anC-ibG-bzA-bzA-bzA-anC-anC] (X)	42

* По данным микроколоночной ионообменной хроматографии.

Реальные выходы синтезированных олигонуклеотидов существенно ниже. Очевидно, это связано с потерями при хроматографии реакционных смесей на ионообменных смолах.

Синтезированные олигонуклеотиды охарактеризованы с помощью УФ-спектров, хроматографии на бумаге, ионообменной микроколоночной хроматографии, ферментативного гидролиза с использованием фосфодиэстеразы змеиного яда (после удаления всех защитных групп).

Предварительные исследования показали, что синтезированный олигонуклеотид образует комплекс с 5'-половиной дрожжевой tRNA^{Val}. Эти результаты будут опубликованы отдельно.

Авторы выражают благодарность В. В. Власову за проведение анализа декануклеотида.

Экспериментальная часть

В работе использовали монодезоксирибонуклеотиды и N-защищенные 5'-монодезоксирибонуклеотиды производства опытного химического цеха НИОХ СО АН СССР. Триизопропилбензолсульфохлорид получали по

[13]. Динуклеотиды синтезировали по [9]. $d[(PhNH)panC-anC]$ получали с использованием дициклогексилкарбодимида по [8], а также с триизопрропилбензолсульфохлоридом по [14]. Конденсации проводили в сухой камере в абс. пиридине, перегнанным над КОН, *n*-толуолсульфохлоридом, P_2O_5 . Содержание влаги в пиридине не больше 0,01%. Анилин трижды перегоняли над КОН.

Хроматографию на бумаге FN-1 осуществляли в нисходящем потоке в следующих системах растворителей: EtOH — 1M AcONH₄, 7 : 3, pH 7,5 (A) и *n*-PrOH — конц. NH₄OH — H₂O, 55 : 10 : 35 (B). УФ-спектры снимали в нейтральных водных растворах на СФ-16. Микроколоночную ионообменную хроматографию проводили в системе Томлинсона — Тенера [15] с использованием прибора МКСФП-1, разработанного в НИОХ; ионообменную хроматографию в препаративном варианте — на DEAE-целлюлозе (ОХЦ НИОХ) DEAE-молселекте А-25 фирмы «Reanal» (Венгрия). Для ферментативного гидролиза олигонуклеотидов использовали фосфодиэстеразу змеиного яда, выделенную Г. Т. Бабкиной. Ферментативный анализ декануклеотида с фосфодиэстеразой змеиного яда был выполнен В. В. Власовым с использованием микроколоночной ионообменной хроматографии. Гидролизат хроматографировали на дауэксе 1 × 8 в градиенте концентрации формиата аммония (0,01—1,2 M), pH 4,4.

$d[(PhNH)panC-anC](II)$. 0,75 г (0,07 ммоль) пиридиниевой соли $d[panC-anC(Ac)]$ растворили в 1,2 мл абс. пиридина, добавили 0,34 г (0,1 ммоль) триизопрропилбензолсульфохлорида и оставили на 2,5 ч при комнатной температуре в сухой камере. Затем добавили 0,23 мл (2,5 ммоль) анилина и выдержали еще 20 мин. К смеси добавили 1,2 мл H₂O, трижды проэкстрагировали эфиром, к остатку прилили равный объем пиридина. Затем при охлаждении смешали с равным объемом 2 н. NaOH, выдержали 15 мин при 0°, нейтрализовали до pH 8 дауэксом 50 (PyH⁺). Анилид динуклеотида отделяли от триизопрропилбензолсульфокислоты хроматографией на DEAE-молселекте А-25 (HCO₃⁻). Выход $d[(PhNH)panC-anC]$ после выделения 82%, $R_{дРТ}$ 1,61 (A). После аммонолиза получили $d[(PhNH)pC-C]$ $R_{дРТ}$ 1,28 (B). Нуклеотидный состав $d(PhNH)pC-dpC$ 1,05 : 1,00.

$d[(PhNH)panC-anC-bzA](III)$. Раствор 1,44 г (2,6 ммоль) пиридиниевой соли $dpbzA(Ac)$ и 1,57 г (5,2 ммоль) триизопрропилбензолсульфохлорида в 13 мл абс. пиридина выдержали 2 ч при комнатной температуре, затем прибавили 0,75 г (0,65 ммоль) триэтиламмонийной соли $d[(PhNH)panC-anC]$ в 6 мл абс. пиридина, 1,4 мл (10,4 ммоль) безводного триэтиламина и оставили на 4 ч при комнатной температуре. Выход $d[(PhNH)panC-anC-bzA]$ после обработки и хроматографического выделения 58% [8].

$d(panG-ibC)(IV)$. 1,81 г (3,2 моль) пиридиниевой соли $dpibG(Ac)$ растворили в 1,2 мл абс. пиридина, прибавили 1,94 г (6,4 ммоль) триизопрропилбензолсульфохлорида и выдержали 3 ч при комнатной температуре. Реакционную смесь прилили к раствору 1,1 г (1,92 ммоль) $d(CNEt)panC$ в 6 мл абс. пиридина и оставили на 3,5 ч при комнатной температуре. После обработки и хроматографического разделения реакционной смеси выделено 22 000 ОЕ₂₉₀ (38%) $d(panC-ibG)$. Характеристики полученного динуклеотида аналогичны характеристикам синтезированного ранее препарата [16].

$d[(PhNH)panC-anC-bzA-anC-ibG](V)$. К раствору пиридиниевой соли $d[panC-ibG(Ac)]$ (0,62 г, 0,6 ммоль) в 3 мл абс. пиридина прибавили 0,55 г (1,8 ммоль) триизопрропилбензолсульфохлорида и выдержали 4 ч при комнатной температуре. Полученную реакционную смесь прилили к раствору 5520 ОЕ (0,1 ммоль) $d[(PhNH)panC-anC-bzA]$ в 1,5 мл абс. пиридина, добавили 0,5 мл (3,6 ммоль) безводного триэтиламина и выдержали 3,5 ч при комнатной температуре. При охлаждении к смеси прибавили предварительно охлажденные 4,1 мл 1M триэтиламина в пиридине, 8,6 мл воды и оставили на ночь. Затем обработали равным объемом 2 н. NaOH (15 мин

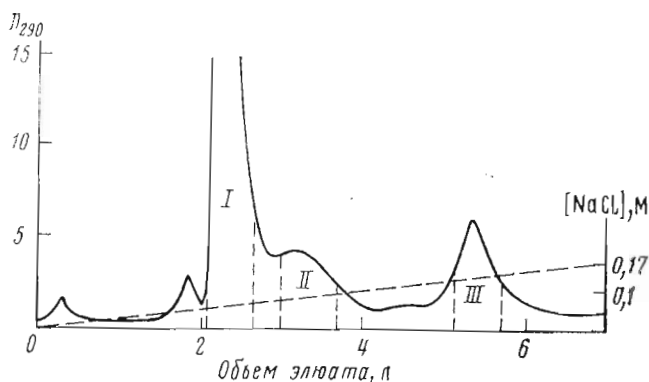


Рис. 1. Выделение пентануклеотида (V). Хроматография на колонке с DEAE-целлюлозой (СГ⁻; 3 × 39 см) в линейном градиенте концентрации NaCl (0—0,17 М) в 7 М мочевице, содержащей 0,01 М трис-НСl, рН 7,5, фракции по 11 мл/12 мин. Пик I содержит 10 000 ОЕ₂₉₀ d(panC-ibG), пик II — 1700 ОЕ₂₉₀ d[(PhNH)panC-anC-bzA], пик III — 3300 ОЕ₂₉₀ пентануклеотида (V)

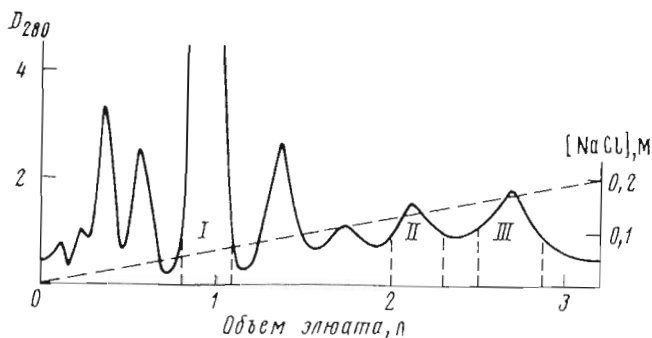


Рис. 2. Выделение гептануклеотида (VII). Хроматография на колонке с DEAE-целлюлозой (СГ⁻; 2,2 × 25 см) в линейном градиенте концентрации NaCl (0—0,2 М) в 7 М мочевице, содержащей 0,01 М трис-НСl, рН 7,5, фракции по 7,5 мл/15 мин. Пик I содержит 2340 ОЕ₂₈₀ d(pbzA-bzA), пик II — 420 ОЕ₂₈₀ пентануклеотида (V), пик III — 500 ОЕ₂₈₀ гептануклеотида (VII)

при 0°), нейтрализовали до рН 8 дауэксом 50 (Р_уН⁺), смолу отфильтровали и промыли 20%-ным водным пиридином. Фильтрат упарили с добавлением *n*-бутанола и хроматографировали на колонке с DEAE-целлюлозой (СГ⁻, 3 × 39 см). (Условия хроматографии приведены на рис. 1.) Фракции 450—510, содержащие пентануклеотид (V), разбавили водой и обессолили на колонке с DEAE-целлюлозой (НСО₃⁻; 1,5 × 25 см), элюат упарили с *n*-бутанолом, метанолом. После обессоливания получили 3300 ОЕ₂₉₀ (39%) анилида пентануклеотида (V), $R_{дрт}$ 0,72 (A). После удаления анилидной защиты действием изоамилнитрита в смеси пиридин — АсОН (1 : 1) [7] выделили хроматографией на бумаге d(panC-anC-bzA-anC-ibC), $R_{дрт}$ 0,40 (A), $\lambda_{макс}$ 286 нм. После аммонолиза получили d(pC-C-A-C-G), $R_{дрт}$ 0,25 (B), $\epsilon_{250}/\epsilon_{260}$ 0,80; $\epsilon_{270}/\epsilon_{260}$ 1,17; $\epsilon_{280}/\epsilon_{260}$ 0,91; $\epsilon_{290}/\epsilon_{260}$ 0,33; нуклеотидный состав dpC — dpA — dpG 2,92 : 1,0 : 1,03.

d(pbzA-anC-anC) (VIII). Смесь пиридиновой соли 0,44 г (0,42 ммоль) d[panC-anC(Ac)] и 0,38 г (1,26 ммоль) триизопропилбензолсульфохлорида в 2 мл абс. пиридина предварительно активировали 3 ч при комнатной

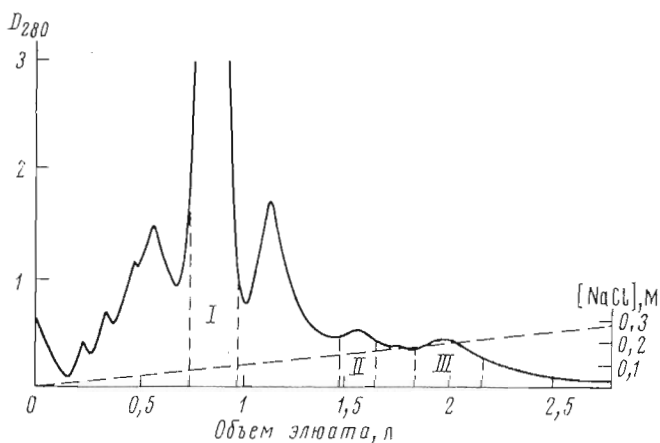


Рис. 3. Выделение декануклеотида (IX). Хроматография на колонке с DEAE-целлюлозой (Cl⁻; 2 × 26 см) в линейном градиенте концентрации NaCl (0—0,27 М) в 7 М мочевины, содержащей 0,02 М трис-НСl, рН 7,5, фракции 5 мл/10 мин. Пик I содержит 960 ОЕ₂₈₀ d(pbzA-bzA), пик II — 79 ОЕ₂₈₀ гептануклеотида (VII), пик III — 110 ОЕ₂₈₀ декануклеотида (IX)

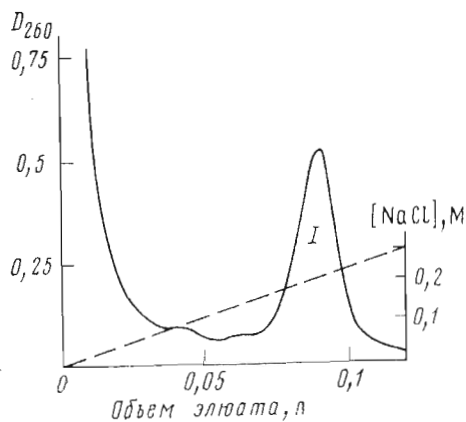


Рис. 4. Хроматография декануклеотида (XI) на колонке с DEAE-целлюлозой (Cl⁻; 0,8 × 9 см) в линейном градиенте NaCl (0—0,27 М) в 7 М мочевины, содержащей 0,02 М трис-НСl, рН 7,5, фракции по 2,2 мл/20 мин. Пик I содержит 11 ОЕ₂₆₀ декануклеотида (XI)

температуре, затем прибавили 0,32 г (0,56 ммоль) d(CNEt)pbzA в 1 мл абс. пиридина и выдержали 4 ч. После соответствующей обработки (см. получение олигонуклеотида (V)) и хроматографического разделения на колонке с DEAE-молселектом А-25 (НСО₃⁻; 2 × 34 см) в линейном градиенте концентрации триэтиламмонийбикарбоната в 20%-ном этаноле (1,2 л 0,05 М — 1,2 л 0,45 М) выделено 7650 ОЕ₂₆₀ d(pbzA-anC-anC) (25%), $R_{\text{дРГ}}$ 0,75 (А), $\lambda_{\text{макс}}$ 288 нм. После аммонолиза получен d(pA-C-C), $R_{\text{дРГ}}$ 0,48 (Б), нуклеотидный состав dpC — dpA 2,1 : 1,0.

d[(PhNH)panC-anC-bzA-anC-ibG-bzA-bzA] (VII). 128 мг (120 мкмоль) пиридиновой соли d[pbzA-bzA(Ac)]* и 108 мг (360 мкмоль) триизопропилбензолсульфохлорида в 0,5 мл абс. пиридина выдержали при комнат-

* Динуклеотид получен ранее описанным методом [9], выход 50%.

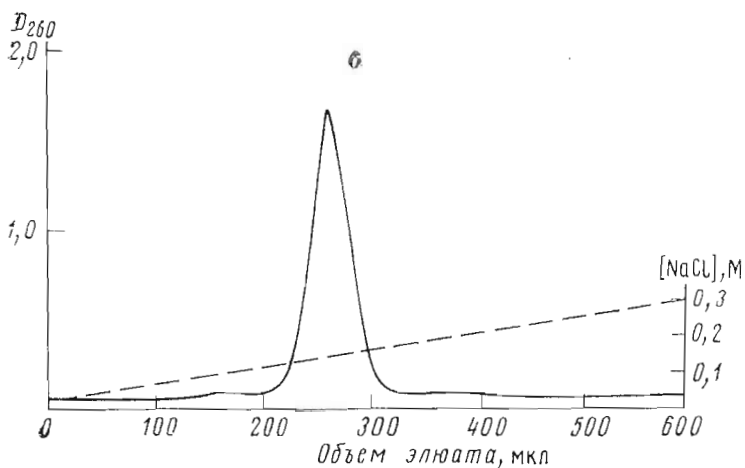
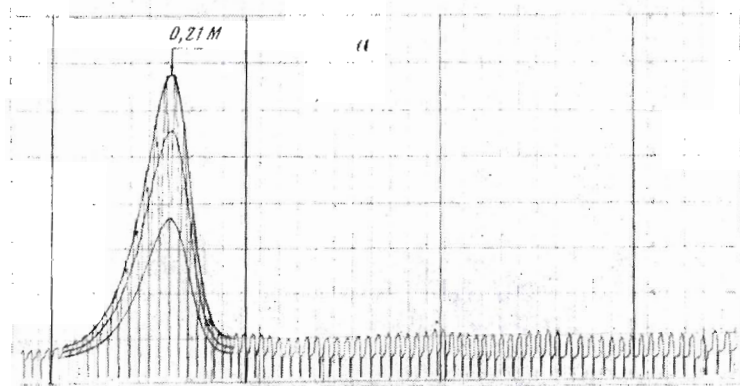


Рис. 5. Микроколоночная хроматография декануклеотида (XI). Колонка с DEAE-целлюлозой (Cl⁻; 1 × 80 мм); регистрации поглощения с помощью микроспектрофотометрической приставки МСФП-1; скорость элюции 300 мкл/ч: а — градиент концентрации NaCl (0,03—0,3 М) в 7 М мочевице, содержащей 0,02 М трис-НСl, рН 7,5 (циклическая смесь длин волн 250, 260, 270, 280, 290 нм); б — градиент концентрации NaCl в 7 М мочевице, рН 3,5 (запись при 260 нм)

ной температуре 3 ч, затем эту смесь прилили к раствору 1300 ОЕ₂₉₀ (15 мкмоль) d[(PhNH)panC-anC-bzA-anC-ibG] в 0,25 мл абс. пиридина, 0,1 мл (720 мкмоль) триэтиламина и оставили на 4 ч. После разложения реакционную смесь обработали 2 л. NaOH, нейтрализовали (см. получение олигонуклеотида (V)) и хроматографировали на колонке с DEAE-целлюлозой (Cl⁻). Условия хроматографии приведены на рис. 2. Объединенные фракции, соответствующие гептануклеотиду (VII) (500 ОЕ₂₈₀), обессолили на колонке с DEAE-целлюлозой (Cl⁻; 1,1 × 16 см). Выделенный продукт, содержащий примесь пентануклеотида (~ 13%), рехроматографировали на DEAE-целлюлозе (Cl⁻; 1,1 × 22 см) в линейном градиенте концентрации NaCl в 7 М мочевице (0,4 л 0,1 М — 0,4 л 0,2 М; 0,02 М трис-НСl, рН 7,5), собирая фракции по 5 мл/15 мин. После обессоливания получили 320 ОЕ₂₈₀ (19%) гептануклеотида (VII), λ_{макс} 282 нм, ε₂₅₀/ε₂₆₀ 0,85; ε₂₇₀/ε₂₆₀ 1,15; ε₂₈₀/ε₂₆₀ 1,38; ε₂₉₀/ε₂₆₀ 1,29; ε₃₀₀/ε₂₆₀ 1,03. Возврат пентануклеотида 30%, динуклеотида — 54%. После удаления амидной защиты и аммонизации получили d(pC-C-A-C-G-A-A), R_{дрг} 0,11 (Б), нуклеотидный состав dpC — dpA — dpG 2,9 : 3,0 : 0,9.

$d[(PhNH)panC-anC-bzA-anC-ibG-bzA-bzA-bzA-anC-anC]$ (IX). 58 мг (37 мкмоль) пиридиниевой соли $d[pbzA-anC-anC(Ac)]$, 45 мг (150 мкмоль) триизопропилбензолсульфохлорида в 0,2 мл абс. пиридина выдержали 3 ч при комнатной температуре, добавили эту смесь к раствору 250 ОЕ₂₈₀ (2,5 мкмоль) $d[(PhNH)panC-anC-bzA-anC-ibG-bzA-bzA]$ в 0,1 мл абс. пиридина 0,04 мл (300 мкмоль) безводного триэтиламина и оставили на 3 ч 40 мин. Реакционную смесь разложили, обработали 2 н. NaOH, нейтрализовали как при получении олигонуклеотида (V), хроматографировали на колонке с DEAE-целлюлозой (Cl⁻). Условия хроматографии и профиль хроматографического разделения приведены на рис. 3. Выход декануклеотида (IX) 110 ОЕ₂₈₀ (26%); возврат гептануклеотида 27%, тринуклеотида — 53%. Фракции 320—420, соответствующие декануклеотиду, объединили, обессолили на колонке с DEAE-целлюлозой (НСО₃⁻; 1,1 × 15 см) и после удаления анилидной защиты рехроматографировали на колонке с DEAE-целлюлозой (Cl⁻; 1 × 19 см) в линейном градиенте концентрации NaCl в 7 М мочеvine (0,3 л 0,1 М — 0,3 л 0,27 М; 0,02 М трис-HCl, pH 7,5). Получили 92 ОЕ₂₈₀ защищенного декануклеотида (X), λ_{max} 286 нм, $\epsilon_{250}/\epsilon_{280}$ 0,80; $\epsilon_{270}/\epsilon_{260}$ 1,14; $\epsilon_{280}/\epsilon_{260}$ 1,37; $\epsilon_{290}/\epsilon_{260}$ 1,35; $\epsilon_{300}/\epsilon_{260}$ 1,11. Порцию полученного вещества (23 ОЕ₂₈₀) после действия конц. NH₄OH (24 ч при комнатной температуре и 3 ч при 50°) хроматографировали на колонке с DEAE-целлюлозой в условиях, приведенных на рис. 4. Получили 11 ОЕ₂₆₀ незащищенного декануклеотида (XI), λ_{max} 260 нм, $\epsilon_{250}/\epsilon_{260}$ 0,83; $\epsilon_{270}/\epsilon_{260}$ 0,86; $\epsilon_{280}/\epsilon_{260}$ 0,54; $\epsilon_{290}/\epsilon_{260}$ 0,20; нуклеотидный состав dpC—dpA—dpG 5,2 : 4,0 : 0,75. Дополнительную проверку чистоты полученного незащищенного декануклеотида (XI) осуществляли с помощью микроколоночной хроматографии на DEAE-целлюлозе (рис. 5).

ЛИТЕРАТУРА

1. Khorana H. G. (1971) *Pure Appl. Chem.*, 25, 91—118.
2. Гринева Н. И., Ломакина Т. С. (1972) *Ж. общ. химии*, 42, 1630—1634.
3. Гринева Н. И., Ломакина Т. С. (1973) *Ж. общ. химии*, 43, 2551—2555.
4. Richardson S. C. (1965) *Proc. Nat. Acad. Sci. USA*, 54, 158—165.
5. Ohtsuka E., Murao K., Ubasawa M., Ikehara M. (1970) *J. Amer. Chem. Soc.*, 92, 3441—3445.
6. Ohtsuka E., Ubasawa M., Ikehara M. (1970) *J. Amer. Chem. Soc.*, 92, 5507—5510.
7. Берлин Ю. А., Колосов М. Н., Коробко В. Г., Чахмахчева О. Г. (1973) *Химия природн. соедин.*, 410—417.
8. Бадашкева А. Г., Зарытова В. Ф., Кнорре Д. Г., Шубина Т. Н. (1975) *Биоорган. химия*, 1, 293—299.
9. Бадашкева А. Г., Берлин Ю. А., Болдырева Е. Ф., Ивановская М. Г., Кнорре Д. Г., Колосов М. Н., Коробко В. Г., Прокофьев М. А., Смирнов В. Д., Шабарова З. А., Шубина Т. Н. (1973) *Химия природн. соедин.*, 394—402.
10. Бадашкева А. Г., Зарытова В. Ф., Кнорре Д. Г., Лебедев А. В., Шубина Т. Н. (1975) *Докл. АН СССР*, 222, 97—100.
11. Knorre D. G., Lebedev A. V., Levina A. S., Rezvukhin A. I., Zarytova V. F. (1974) *Tetrahedron*, 30, 3073—3079.
12. Зарытова В. Ф., Кнорре Д. Г., Лебедев А. В., Левина А. С., Резвухин А. И. (1974) *Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим. н.*, 7, 121—125.
13. Lohrman R., Khorana H. G. (1966) *J. Amer. Chem. Soc.*, 88, 829—833.
14. Бадашкева А. Г., Зарытова В. Ф., Урманов И. Х., Шубина Т. Н. (1975) *Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим. н.*, вып. 1, № 2, 124—130.
15. Tomlinson R. V., Tener G. M. (1962) *J. Amer. Chem. Soc.*, 84, 2644—2645.
16. Берлин Ю. А., Болдырева Е. Ф., Ефимов В. А., Колосов М. Н., Коробко В. Г., Полякова А. И., Чахмахчева О. Г., Чупрунова О. А. (1973) *Химия природн. соедин.*, 402—410.

Поступила в редакцию
30.XII.1975

THE SYNTHESIS OF THE DECADEOXYRIBONUCLEOTIDE
COMPLEMENTARY TO THE 1-10 SEGMENT OF THE YEAST
tRNA₁^{Val} UNDER CONDITIONS OF STABILIZATION OF ANILIDATE
PROTECTIVE GROUP OF THE 5'-TERMINAL PHOSPHATE

BADASHKEEVA A. G., KNORRE D. G., SHUBINA T. N.

*Institute of Organic Chemistry, Siberian Branch
of Academy of Sciences of the USSR, Novosibirsk*

Decadeoxyribonucleotide d(pC-C-A-C-G-A-A-A-C-C) has been synthesized using phosphoroanilidate group for the protection of 5'-terminal phosphate. Triisopropylbenzenesulphonyl chloride has been used as a coupling reagent under the conditions of phosphoroamidate bond stabilization. The synthesis has been carried out according to the following scheme: 2 + 1 + 2 + 2 + 3. Decanucleotide thus obtained is capable of binding complementarily to the 5'-half of the yeast tRNA₁^{Val}.
