



УДК 547.854.4'466'796.1.057:543.422.8

3'-(ТЕТРАЗОЛ-2"-ИЛ)-3'-ДЕЗОКСИТИМИДИН И ЕГО 5"-ЗАМЕЩЕННЫЕ: СИНТЕЗ И КОНФОРМАЦИЯ В КРИСТАЛЛИЧЕСКОМ СОСТОЯНИИ.

СУБСТРАТНЫЕ СВОЙСТВА

3'-(ТЕТРАЗОЛ-2"-ИЛ)-3'-ДЕЗОКСИТИМИДИН-5'-ТРИФОСФАТА ПО ОТНОШЕНИЮ К ДНК-ПОЛИМЕРАЗАМ

© 1995 г. В. А. Островский, Е. П. Студенцов, В. С. Поплавский, Н. В. Иванова,
Г. В. Гурская*, В. Е. Заводник**, М. В. Ясько*, Д. Г. Семизаров*

Санкт-Петербургский технологический институт, Санкт-Петербург;

*Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, Москва;

**Научно-исследовательский физико-химический институт им. Л.Я. Карпова, Москва

Поступила в редакцию 05.02.94 г.

В результате взаимодействия 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина с триэтиламмониевыми солями тетразола или 5-замещенных тетразолов получены 5'-О-бензоил-3'-(тетразол-2"-ил)-3'-дезокситимидин и его 5"-замещенные, дебензоилированием которых синтезированы 3'-(тетразол-2"-ил)-3'-дезокситимидин и его 5"-замещенные. Структура двух из них подтверждена рентгеноструктурным анализом. 3'-(Тетразол-2"-ил)-3'-дезокситимидин и 3'-(5"-метилтетразол-2"-ил)-3'-дезокситимидин имеют *анти*-конформацию тимины относительно гликозидной связи, 2'-эндо-3'-экзо-конформацию сахарного остатка с *гоши*⁺-расположением относительно С4'-С5'-связи. 3'-(Тетразол-2"-ил)-3'-дезокситимидин-5'-трифосфат показал слабые субстратные свойства по отношению к обратной транскриптазе вируса миелобластома птиц и не проявил таковых по отношению к ряду ДНК-полимераз.

Ключевые слова: нуклеозиды, нуклеотиды; тетразолы, аналоги, кристаллическая структура.

В настоящее время в качестве лекарственных препаратов против СПИДа используются модифицированные по 3'-положению 2',3'-дидезокси-нуклеозиды: 3'-азидо-3'-дезокситимидин, 2',3'-дидезоксиинозин, 2',3'-дидезоксицитидин и 3'-дезоксиде-2',3'-дидегидротимидин [1, 2]. Однако эти соединения токсичны, поэтому в разных лабораториях мира продолжается поиск 3'-замещенных 2',3'-дидезоксинуклеозидов, проявляющих анти-ВИЧ-активность [2, 3]. В этой связи определенный интерес представляют такие аналоги 3'-азидо-3'-дезокситимидина, как 3'-азольные производные. Была синтезирована серия подобных соединений, содержащая 3'-N-пирролил-, 3'-N-пиразолил-, 3'-N-(1",3",4"-триазолил)-3'-дезокситимидины, а также 3'-N-(1",2",3"-триазолил)-, 3'-N-(1",2",4"-триазолил)-3'-дезоксиде-*арабино*-тимидины [4], а также 3'-N-(5"-алкил- или ариламинотетразол-1"-ил)-3'-дезокситимидины [5], причем все они получены либо путем образования соответствующего азольного цикла на основе аминокгруппы 3'-амино-3'-дезокситимидина, либо реакцией соответст-

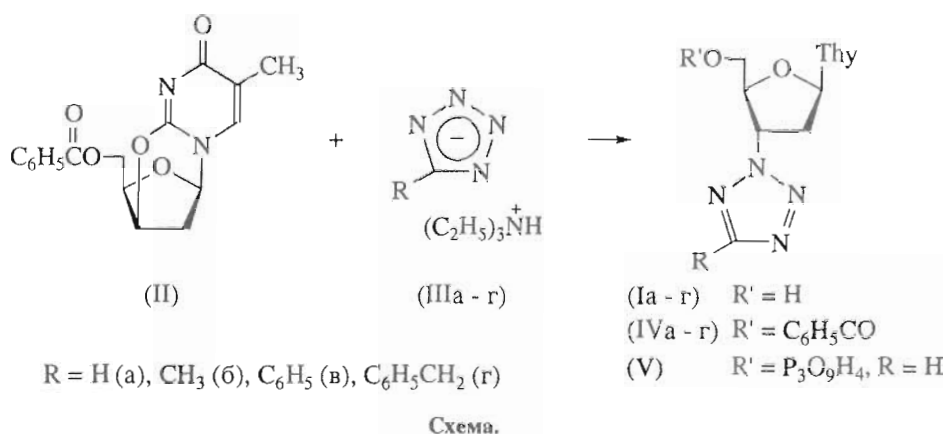
вующего азола с 2',3'-ангидро-*липсо*-тимидином с последующим удалением 2'-гидроксила.

Нами показано, что 3'-N-(тетразол-2"-ил)-3'-дезокситимидин (Ia) и его 5"-замещенные (Iб) - (Iг) можно получить путем взаимодействия 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина (II) с триэтиламмониевыми солями тетразола и 5-замещенных тетразолов (III) в смеси DMF-диоксан (схема).

Аммониевые соли тетразола и 5-замещенных тетразолов могут существовать в апротонных диполярных растворителях в виде комплексов с водородной связью (моно-, ди- и триалкиламмониевые соли) или диссоциировать с образованием сольватированных ионов (четвертичные соли аммония). Эти соли используются для получения N-замещенных тетразолов различного строения [6]. При этом следует учитывать возможность образования изомерных N1- и N2-замещенных тетразолов в соотношении, зависящем от электронных свойств заместителя при С5 тетразола, а также стерических факторов [7].

Чистота и строение синтезированных соединений подтверждены ТСХ, элементным анализом, ЯМР и масс-спектрометрией (табл. 1 - 3). Проведен

Адрес для переписки: 117984, Москва, ул. Вавилова, 32, Институт молекулярной биологии РАН.



рентгеноструктурный анализ соединений (Ia) и (Iб); полученные данные доказывают структуру этих соединений (рис. 1). Установлено, что молекулы (Ia) и (Iб) в кристаллах имеют сходную конформацию.

В обоих соединениях наблюдается *анти*-ориентация тимина относительно фуранозного цикла: торсионный угол χ (O4', C1', N1, C2) равен -113.0° для (Ia) и -125.8° для (Iб). Фазовые углы псевдповращения P для фуранозных циклов равны

Таблица 1. Характеристики полученных соединений

Соединение	Т. пл., °C	R_f	Молекулярная формула	Элементный анализ						Выход, %	Масс-спектр, m/z
				найдено, %			вычислено, %				
				C	H	N	C	H	N		
Ia	170 - 172	0.26	C ₁₁ H ₁₄ N ₆ O ₄	44.88	5.06	28.61	44.90	4.80	28.55	37	294
Iб	205 - 207	0.22	C ₁₂ H ₁₆ N ₆ O ₄	46.85	4.98	27.48	46.75	5.23	27.25	45	308
Iв	204 - 207	0.40	C ₁₇ H ₁₈ N ₆ O ₄	55.56	4.47	23.23	55.13	4.90	22.69	61	370
Iг	134 - 137	0.39	C ₁₈ H ₂₀ N ₆ O ₄	56.56	4.81	22.24	56.24	5.24	21.86	20	384
IVa	182 - 185	0.50	C ₁₈ H ₁₈ N ₆ O ₅	53.55	4.65	21.55	54.27	4.55	21.09	30	398
IVб	159 - 162	0.46	C ₁₉ H ₂₀ N ₆ O ₅	55.20	4.95	20.49	55.34	4.88	20.38	51	412
IVв	218 - 220	0.64	C ₂₄ H ₂₂ N ₆ O ₅	60.29	4.34	17.29	60.75	4.67	17.71	32	474
IVг	113 - 121*	0.63	C ₂₅ H ₂₄ N ₆ O ₅	61.68	5.12	17.42	61.47	4.95	17.20	44	488

* С разложением.

Таблица 2. ¹H-ЯМР-спектры соединений (Ia) - (Iг) и (IVa) - (IVг) δ , м. д. (J, Гц)

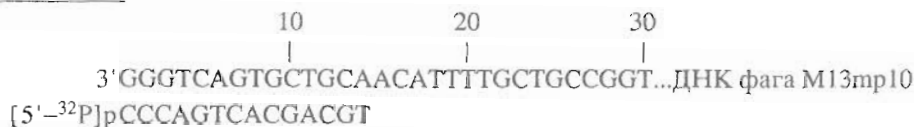
Соединение	H-6 c	H-1' т (7.5)	2H-2' м	H-3' м	H-4' м	2H-5' м	CH ₃ c	NH c	Другие протоны
Ia	7.80	6.55	2.7 - 2.9	5.75	4.35	3.8	1.7	11.4	5.35 т, OH (5); 9.1 с, H5"
Iб	7.80	6.50	2.7 - 2.9	5.65	4.25	3.7	1.8	11.35	2.5 с, CH ₃ ; 5.35 т, OH (5)
Iв	7.9	6.65	2.7 - 2.9	5.8	4.4	4.0	1.85	11.35	7.65 м, Ph
Iг	7.8	6.30	2.7 - 2.8	5.65	4.3	3.7	1.8	11.0	2.1 м, PhCH ₂ ; 7.3 м, Ph
IVa	7.80	6.60	3.00	6.15	4.70		1.7	11.6	8.15 м, Ph; 9.3 с, H5"
IVб	7.65	6.60	3.10	6.0	4.70		1.7	11.2	2.5 с, CH ₃ ; 8.15 м, Bz
IVв	7.75	6.65	3.01	6.15	4.78		1.7	11.6	8.15 м, Ph + Bz
IVг	7.35	6.65	2.95	6.0	4.65		1.63	11.6	4.3 м, PhCH ₂ ; 7.65 м, Ph; 8.05 м, Bz

173.0° для (Iа) и 165.1° для (Iб), максимальные амплитуды псевдповращения $\phi_m = 38.4^\circ$ для (Iа) и 25.8° для (Iб), т.е. в обоих соединениях фуранозный цикл имеет C2'-эндо-C3'-экзо-конформацию (2T_3) с отклонениями атомов C2' и C3' от плоскости атомов C1', O4', C4', равными 0.309 и 0.173 Å для (Iа) и 0.366 и 0.037 Å для (Iб). Конформация молекул относительно экзоциклической C4'-C5'-связи — *gosh*⁺ с торсионными углами γ (O5', C5', C4', C3'), равными 50.3° (Iа) и 47.8° (Iб).

Следует отметить близость конформации (Iа) и одной из кристаллографически независимых молекул 3'-азидо-3'-дезокситимицина [8], но существенное отличие от конформации 3'-амино-3'-

дезокситимицина [9, 10] и 3'-метиламино-3'-дезокситимицина [11]; 5'-трифосфаты этих модифицированных нуклеозидов являются терминирующими субстратами по крайней мере некоторых ДНК-полимераз.

Тетразолидный нуклеозид (Iа) был превращен в соответствующий 5'-трифосфат (V) реакцией с трис(1,2,4-триазолил)фосфорилосксидом и затем с пиродифосфатом. Трифосфат (V) исследовался в качестве терминирующего субстрата для ряда ДНК-полимераз. В качестве праймер-матричного комплекса использовали ДНК фага M13mp10 и 14-членный комплементарный праймер, несущий в 5'-положении [^{32}P]фосфатный остаток.



Была выбрана односубстратная система, подробное описание которой дано в сообщении [12].

Как видно из рис. 2, включение нуклеотидного остатка из трифосфата (V) в 3'-положение цепи праймера наблюдается только в случае обратной транскриптазы вируса миелобластома птиц (ВМП) (серия а). При концентрации (V) 100 мкМ появляется новая полоса на геле (а, дорожка 4), соответствующая пентадекануклеотиду, контролем служит полоса на дорожке 2 серии а, в которой 15-м нуклеотидом в праймер включен остаток тимидилата.

Остальные ферменты (ДНК-полимеразы α из плаценты человека, β из печени крысы, I из *E. coli* и обратная транскриптаза вируса иммунодефицита человека) не включают трифосфат (V) в цепь ДНК, что видно по отсутствию полосы пентадекануклеотида на дорожках 3 и 4 в сериях в - д. Более короткие олигонуклеотиды в серии д (дорожки 1, 3, 4) возникают как следствие гидролиза праймера 3' \rightarrow 5'-экзонуклеазной активностью ДНК-полимеразы I. Соответствующие фрагменты в серии в образуются из-за примесной экзо-

нуклеазной активности в препарате ДНК-полимеразы α .

Так как включение соединения (V) в ДНК (серия а, дорожка 4) наблюдалось лишь при 100 мкМ, и то в небольшой степени (при концентрации 10 мкМ включение (V) вообще не наблюдается — дорожка 3 серии а), можно сделать вывод о низком сродстве трифосфата (V) к ДНК-синтезирующему комплексу. В этих условиях при 10 мкМ dTTP почти весь праймер превращается в пентадекануклеотид (дорожка 2 серии а). Из сопоставления этих данных можно заключить, что даже для обратной транскриптазы ВМП сродство к соединению (V) по крайней мере в десятки раз ниже такового для dTTP.

Синтез 5"-замещенных 3'-N-(тетразол-2"-ил)-3'-дезокситимицина взаимодействием 5'-защищенного 2,3'-O-ангидротимицина с солями соответствующих тетразолов позволяет получить большую группу 3'-модифицированных нуклеозидов. Это стабильные соединения; конформация молекул по крайней мере двух из них в кристалле очень близка к конформации в кристалле одной

Таблица 3. ^{13}C -ЯМР-спектры соединений (Iа) - (Iг) (δ , м. д.)

Соединение	C-2	C-4	C-5	C-6	C-1'	C-2'	C-3'	C-4'	C-5'	C-5"	5CH ₃	Другие
Iа	150.5	163.7	109.9	136.1	84.1	36.3	62.9	83.9	61.4	153.7	12.3	—
Iб	150.5	163.8	109.9	136.1	84.1	36.2	62.7	84.0	61.1	162.8	12.3	10.63, 5"CH ₃
Iв	150.6	163.8	109.9	136.2	84.2	36.3	63.2	83.9	61.2	164.5	12.3	126.5, 126.8, 129.4, 130.8, Ph
Iг	150.5	163.8	109.9	136.9	84.1	36.2	62.9	83.9	61.1	165.4	12.3	31.0, CH ₂ Ph; 126.8, 128.6, 128.8, 136.1, Ph

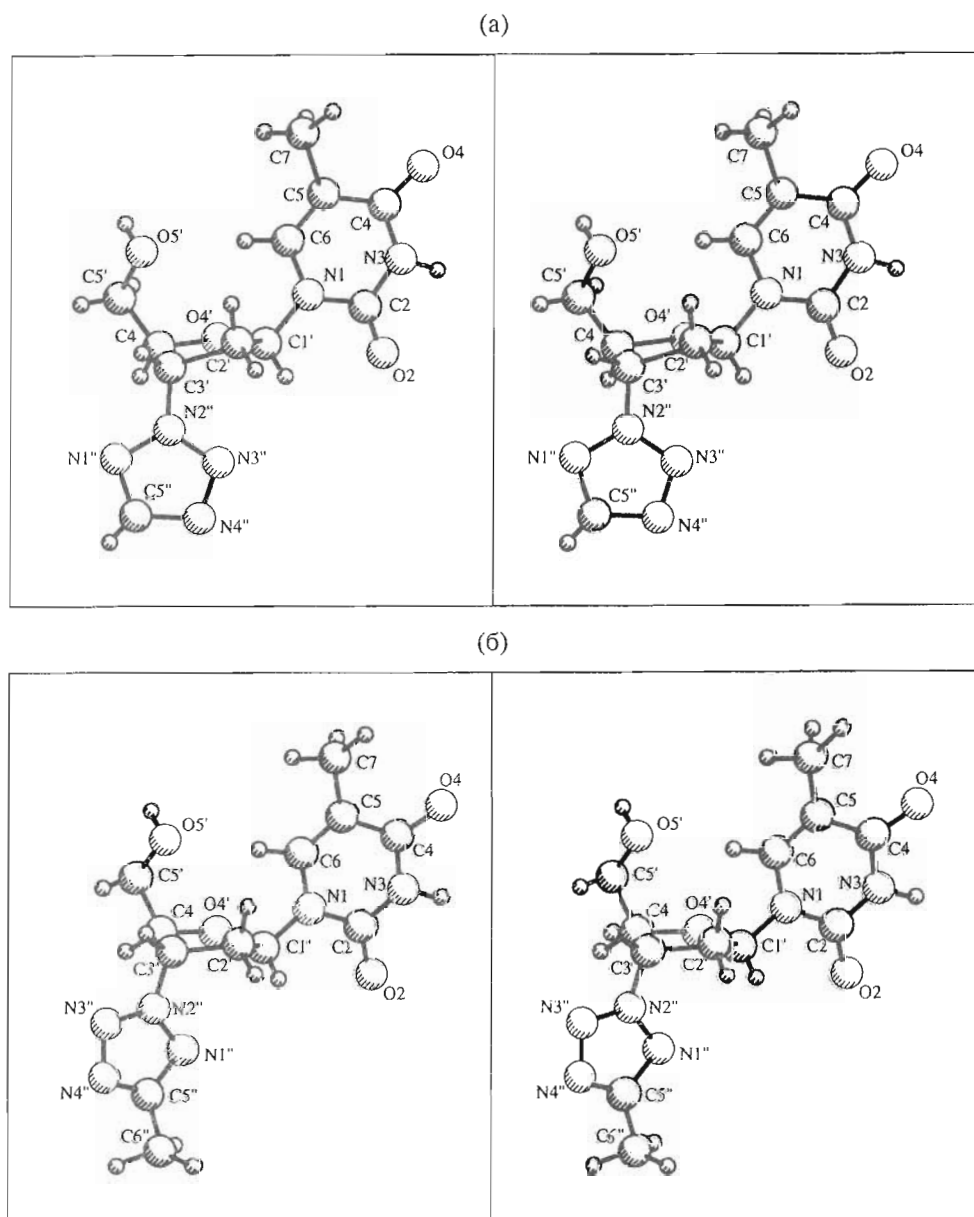


Рис. 1. Стереизображение молекул: 3'-(тетразол-2''-ил)-3'-дезокситимидин (Ia) (а) и 3'-(5''-метилтетразол-2''-ил)-3'-дезокситимидин (Iб) (б).

из кристаллических форм 3'-азидо-3'-дезокситимидина [8]. Однако в отличие от 3'-азидо-3'-дезокситимидина свойства терминаторного субстрата (V) выражены очень слабо, и лишь по отношению к обратной транскриптазе ВМП. Очевидно, что только данные о конформации в кристалле конформационно подвижных нуклеозидов не позволяют предсказать субстратные свойства их 5'-трифосфатов по отношению к ДНК-полимеразам.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

^1H -ЯМР-спектры (200 МГц, внутренний стандарт – Me_4Si) и ^{13}C -ЯМР-спектры (50.3 МГц, с по-

давлением расщепления на протонах, внутренний стандарт – $\text{DMSO-}d_6$) сняты на спектрометре Bruker AC-200, в всех случаях в качестве растворителя использовался $\text{DMSO-}d_6$. Масс-спектрометрия (в режиме электронного удара) выполнена на спектрометре MX 1308 (70 эВ). ТСХ проводили на пластинках Silufol UV-254 (Kavalier) в этилацетате, использовалась DEAE-целлюлоза DE-32 фирмы Whatman. Тетразол и 5-замещенные тетразолы получали известными методами [6], 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидин – по [13]. Данные элементного анализа соединений (Ia) - (Iг) и (IVa) - (IVг) на С, Н, N соответствовали вычисленным значениям.

Кристаллы для рентгеноструктурного анализа (Ia) и (Iб) выращены из насыщенных растворов этих соединений в смеси вода-этанол путем медленного испарения растворителя при комнатной температуре. Рентгеновская съемка проведена на дифрактометре САД-4 на MoK_α -излучении с β -фильтром методом $\theta/2\theta$ -сканирования. Структуры решены прямыми методами и уточнены полноматричным методом наименьших квадратов в анизотропном приближении для неводородных атомов до $R = 0.027$ (Ia) и 0.058 (Iб).

Использовали следующие ферменты: ДНК-полимеразу α (КФ 2.7.7.7) из плаценты человека, выделенную по методике [14], ДНК-полимеразу β (КФ 2.7.7.7) из печени крысы [15], обратную транскриптазу ВИЧ-1 (КФ 2.7.7.49), выделенную Т.А. Розовской [16], обратную транскриптазу вируса миелобластоза птиц (КФ 2.7.7.49; Омутнинский химический завод), фрагмент Кленова ДНК-полимеразы I из *E. coli* – препарат фирмы Amersham. Праймерный тетрадекануклеотид метили по 5'-положению при помощи $[\gamma\text{-}^{32}\text{P}]\text{ATP}$ (уд. акт. 1500 Ки/ммоль, "Радиоизотоп") и полинуклеотидкиназы фага T4 по [17]. Матричную ДНК гибридизовали с 5'- ^{32}P -меченым праймером в следующих буферах: 10 мМ трис-НСI (рН 7.9), 5 мМ MgCl_2 , 1 мМ дитиотреит (для ДНК-полимеразы I, фрагмента Кленова); 10 мМ трис-НСI (рН 8.2), 5 мМ MgCl_2 , 40 мМ КСI, 1 мМ дитиотреит (для обратных транскриптаз); 10 мМ трис-НСI (рН 7.4), 6 мМ MgCl_2 , 0.4 мМ дитиотреит (для ДНК-полимеразы α); для ДНК-полимеразы β то же, как для α , но при рН 8.5.

5'-О-Бензоил-3'-(тетразол-2''-ил)-3'-дезокситимидин (IVa). Нагревали 40 ч при 100°C смесь 20 г (0.06 моль) 5'-О-бензоил-2,3'-ангидротимидина (II) с 5.04 г (0.072 моль) тетразола и 10.08 мл (0.072 моль) триэтиламина в 120 мл DMF и 20 мл диоксана, реакционную массу охлаждали, фильтровали и растворитель упаривали. Полученную маслянистую жидкость (22.9 г) растворяли в 400 мл хлороформа, промывали водой, сушили MgSO_4 , разбавляли хлороформом до 1 л и фильтровали через 5-см слой силикагеля L 40/100 (Chemapol), хлороформ упаривали и полученную маслянистую жидкость перекристаллизовывали из этанола. Выход 7.2 г (30%).

Соединения (IVб - г) получали по аналогичной методике.

3'-(Тетразол-2''-ил)-3'-дезокситимидин (Ia). Перемешивали 10 мин при 20 - 25°C 9.15 г (0.023 моль) производного (IVa) в 65 мл метанола и 26 мл 33% водного диметиламина и нагревали 40 мин при 60°C (до исчезновения исходного (IVa) по ТСХ). Растворитель упаривали, остаток перепаривали с водой (5 раз по 400 мл), остаток охлаждали и выпавшие кристаллы перекристаллизовывали с активированным углем из воды. Выход 2.5 г (37%).

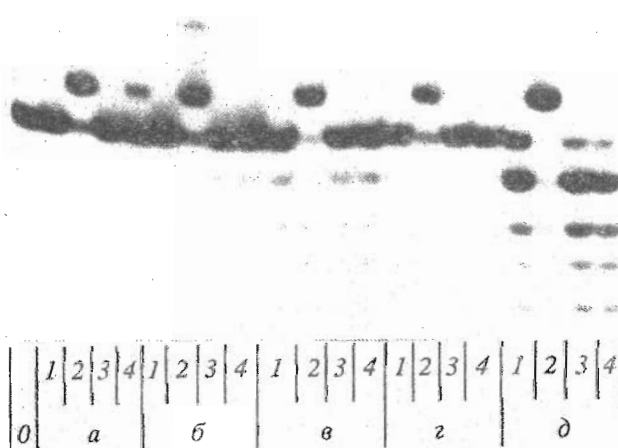


Рис. 2. Радиоавтограф разделения в 20% полиакриламидном геле продуктов реакции, катализируемой обратной транскриптазой вируса миелобластоза птиц (а), обратной транскриптазой вируса иммунодефицита человека (б), ДНК-полимеразами α (в), β (г) и I (д). 0 – комплекс [праймер + матрица]: 1 – как 0 + фермент; 2 – как 1 + 10 мкМ dNTP; 3 – как 1 + 10 мкМ (V); 4 – как 1 + 100 мкМ (V).

Соединения (Iб - г) получали по аналогичной методике.

3'-(Тетразол-2''-ил)-3'-дезокситимидин-5'-трифосфат (V). Растворяли 22 мг (0.3 ммоль) 1,2,4-триазола в 0.5 мл ацетонитрила, прибавляли 44 мкл (0.3 ммоль) триэтиламина и 10 мкл (0.1 ммоль) хлорокиси фосфора, через 40 мин при 20°C осадок отделяли центрифугированием и в раствор вносили 21 мг (0.07 ммоль) (Ia). Реакционную массу перемешивали 1 ч при 20°C, прибавляли 1 мл 0.5 М бис(три-*n*-бутиламмоний)пирофосфата (0.5 ммоль) в DMF и оставляли на 1 ч при 20°C. Затем реакционную смесь разбавляли водой до 50 мл, наносили на колонку (3 × 10 см) с DE-32 (HCO_3^- -форма) и вещества элюировали в градиенте концентрации NH_4HCO_3 (0 → 0.3 М). УФ-поглощающие фракции упаривали, остаток перепаривали с 50% этанолом. Выход 11 мг (29%). ^1H -ЯМР-спектр (D_2O ; δ , м. д., J, Гц): 8.73 с (1H, H-5''), 7.78 кв (1H, H-6), 6.52 м (1H, J7, H-1''), 5.95 м (1H, H-3'), 4.53 м (1H, H-4'), 4.31 м (2H, H-5'), 2.88 м (2H, H-2'), 1.94 д (3H, J1, 5- CH_3). ^{31}P -ЯМР-спектр (D_2O ; δ , м. д.): -8.3 д (P γ), -10.8 д (P α), -22.1 т (P β); $J_{\text{P}\alpha, \text{P}\beta} = J_{\text{P}\beta, \text{P}\gamma} = 22$ Гц.

Реакции с ДНК-полимеразами проводили как описано в работе [12]. Включение нуклеотидного остатка в 3'-конец $[\text{5}'\text{-}^{32}\text{P}]$ праймера проводили в инкубационной смеси объемом 6 мкл, содержащей 0.01 мкМ праймер-матричный комплекс, 10 мкМ dNTP либо 10 мкМ или 100 мкМ (V), фермент (3 ед. акт. обратных транскриптаз, 1 ед. акт. ДНК-полимераз α и β , 0.4 ед. акт. ДНК-полимеразы I, фрагмента Кленова) и соответствующий

буфер. Реакцию проводили 20 мин при 37°C (20°C, 10 мин в случае ДНК-полимеразы I) и оставляли добавлением 3 мкл формамида, содержащего EDTA и красители. Продукты реакции разделяли электрофорезом в 20% денатурирующем ПААГ, радиоавтографию проводили с использованием рентгеновской пленки фирмы Kodak.

Работа выполнена при финансовой поддержке Российского фонда фундаментальных исследований, проект № 93-04-7959 и № 93-04-20542 и программы "Национальные приоритеты в медицине и здравоохранении: СПИД", гр. Sp. 306.

Авторы выражают благодарность акад. РАН А.А. Краевскому за помощь в написании статьи, а также В.А. Гиндину и А.В. Грибанову за помощь в измерении и интерпретации ЯМР-спектров.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Mitsuya H., Yarchoan R., Broder S. // Science. 1990. V. 249. P. 1553 - 1544.
- De Clercq E. // Med. Res. Rev. 1992. V. 13. № 3. P. 229 - 258.
- Краевский А.А. // Молекулярн. биология. 1992. Т. 26. № 4. С. 725 - 744.
- Wigerinck P., Van Aerschot A., Janssen G., Claes P., Balzarini J., De Clercq E., Herdewijn P. // J. Med. Chem. 1990. V. 33. № 2. P. 868 - 873.
- Habich D. // Synthesis. 1992. № 4. P. 358 - 360.
- Колдобский Г.И., Островский В.А., Поплавский В.С. // Химия гетероциклич. соедин. 1981. № 10. С. 1299 - 1326.
- Островский В.А., Поплавский В.С., Колдобский Г.И. // Перспективные направления химии и химической технологии // Ред. Дудырев А.С., Богданов В.В. Л.: Химия, 1991. С. 103 - 112.
- Гурская Г.В., Цапкина Е.Н., Скапцова Н.В., Краевский А.А., Линдеман С.В., Стручков Ю.Т. // Докл. АН СССР. 1986. Т. 291. № 4. С. 857 - 859.
- Гурская Г.В., Цапкина Е.Н., Линдеман С.В., Стручков Ю.Т., Краевский А.А. // Докл. АН СССР. 1988. Т. 303. № 6. С. 1378 - 1381.
- Kovacs T., Parkanyi L., Pelczer I., Cervantes-Lee F., Rannell K.H., Torrence P.F. // J. Med. Chem. 1991. V. 34. № 8. P. 2595 - 2600.
- Бочкарев А.В., Ясько М.В., Жданов А.С., Федоров И.И., Гурская Г.В. // Биоорган. химия. 1992. Т. 18. № 7. С. 996 - 1001.
- Victorova L.S., Dyatkina N.B., Mozherin D.Ju., Atrazhev A.M., Kravetsky A.A., Kukhanova M.K. // Nucl. Acids Res. 1993. V. 20. № 4. P. 783 - 789.
- Зайцева В.Е., Дяткина Н.Б., Краевский А.А., Скапцова Н.В., Турина О.В., Гнучев Н.В., Готтхих Б.П., Ажаев А.В. // Биоорган. химия. 1984. Т. 10. № 5. С. 670 - 680.
- Мозжерин Д.Ю., Атражев А.М., Куханова М.К. // Молекулярн. биология. 1992. Т. 26. № 5. С. 999 - 1010.
- Атражев А.М., Куханова М.К. // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. № 12. С. 1627 - 1635.
- Розовская Т.А., Белогуров А.А., Лукин М.А., Чернов Д.Н., Куханова М.К., Бибилативили Р.Ш. // Молекулярн. биология. 1993. Т. 27. № 3. С. 618 - 630.
- Maniatis T., Fritsch E.F., Sambrook J. // Molecular Cloning: Laboratory Manual. N.Y.: Cold Spring Harbor Laboratory Press, 1989.

3'-(Tetrazole-2''-yl)-3'-deoxythymidine and Its 5''-Substituted: Synthesis and Conformation in Crystal State. Substrate Properties of 3'-(Tetrazole-2''-yl)-3'-deoxythymidine 5''-Triphosphate towards DNA Polymerases

V. A. Ostrovskii, E. P. Studentsov, V. S. Poplavskii, N. V. Ivanova, G. V. Gurskaya*, V. E. Zavodnik**, M. V. Jasko*, and D. G. Semizarov*

St.-Petersburg Institute of Technology, St.-Petersburg;

*Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, Moscow;

** Karpov Physicochemical Research Institute, Moscow

Abstract – 5''-Derivatives of 3'-(tetrazole-2''-yl)-3'-deoxythymidines were synthesized by interaction of 5'-benzoyl-2',3'-anhydrothymidine with tetrazole or its 5-derivatives followed by debenzoylation. Structures of two of them, 3'-(tetrazole-2''-yl)-3'-deoxythymidine and 3'-(5''-methyltetrazole-2''-yl)-3'-deoxythymidine, elucidated by X-ray analysis, revealed *anti* conformation of thymine about the glycosidic bond and 2'-*endo*-3'-*exo*-conformation of the sugar residue with *gauche** orientation with respect to C4'-C5'-bond. 3'-(Tetrazole-2''-yl)-3'-deoxythymidine 5''-triphosphate demonstrated poor substrate properties for the avian myeloblastosis virus reverse transcriptase and none for several other DNA polymerases.

Key words: nucleosides; nucleotides; tetrazoles, analogues, crystal structure.

Address: Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, 32 Vavilov Str., 117984 Moscow.