



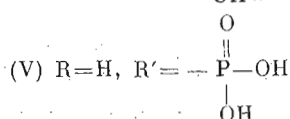
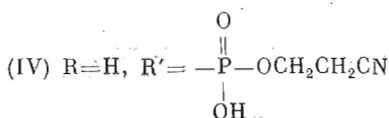
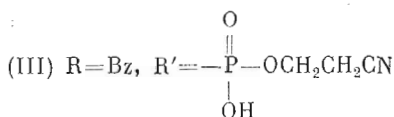
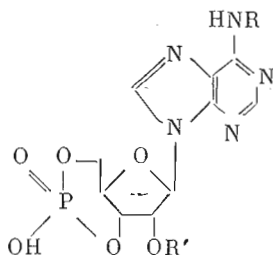
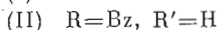
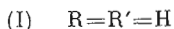
УДК 577.113.3

НОВЫЙ КЛАСС АНАЛОГОВ АДЕНОЗИН-3',5'-ЦИКЛОФОСФАТА. СИНТЕЗ 2'-ФОСФАТА АДЕНОЗИН-3',5'-ЦИКЛОФОСФАТА

Карпский М. Я., Михайлов С. Н., Падюкова Н. Ш.

Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

Участие аденозин-3', 5'-циклофосфата (I, cAMP) в качестве регулятора в различных биологических процессах определяет интерес к синтезу аналогов этого соединения. Недавно было показано, что 2'-аденилирование таких коферментов и низкомолекулярных регуляторов, как никотинамид-адениндинуклеотид, диаденозинтетрафосфат и ADP-рибоза 2'-5'-oligo (A) — синтетазой приводит к изменению их биологических свойств [1, 2]. В связи с этим представлялось интересным синтезировать аналоги cAMP, содержащие в 2'-положении остатки фосфорной кислоты и ее эфиров. В литературе до настоящего времени подобные соединения не были описаны и отсутствовали данные о возможности прямого фосфорилирования cAMP. В настоящем сообщении предложен наиболее простой способ получения указанных аналогов — фосфорилирование N⁶-бензоиладенозин-3',5'-циклофосфата (II) моноэфиром фосфорной кислоты в присутствии N, N'-дициклогексилкарбодиимида или 2, 4, 6-триизопропилбензолсульфохлорида.



Бензоилированием пиридиниевой соли cAMP (I) бензоилхлоридом в абс. пиридине (2 ч, 20° С) с последующим щелочным гидролизом 1 M LiOH в течение 15 мин при 20° С получали литиевую соль N⁶-бензоиладенозин-3',5'-циклофосфата (II) с выходом 77%. УФ-спектр: λ^{pH1}_{ма} 255 нм (ε 10 000), 290 нм (ε 24 000); λ^{pH13}_c 300 нм (16 500). ПМР-спектр (D₂O), δ, м. д.: 8,80с (1H; 8-H); 8,54с (1H; 2-H); 8,04—7,58м (5H; Bz); 6,31с (1H; 1'-H). R_f 0,81 (Silufol, Pr'OH — конц. аммиак — вода, 7 : 1 : 2).

Пиридиниевую соль соединения (II) фосфорилировали β-цианэтилфосфатом в абс. пиридине в присутствии N, N'-дициклогексилкарбодиимида по методу [3] в течение 4 сут при 20° С. Продукты реакции выделяли на колонке с DEAE-целлюлозой (HCO₃⁻-форма) в градиенте концентрации

NH_4HCO_3 (0→0,3 М), β -цианэтиловый эфир (III) элюировался 0,16 М NH_4HCO_3 . Выход 18%. R_f 0,50. ПМР-спектр (D_2O), δ , м. д.: 8,83с (1Н, 8-Н); 8,59с (1Н; 2-Н); 8,08–7,52м (5Н; Вz); 6,52с (1Н; 1'-Н); 4,18к (2Н, J 6,5 Гц; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$); 2,87т (2Н, J 6,5 Гц; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$). ^{31}P -ЯМР-спектр (D_2O , внешний стандарт — 85% H_3PO_4), δ , м. д.: $-0,99\text{с}$; $-1,82\text{с}$ (при подавлении по протонам). Применение в качестве конденсирующего агента триизопропилбензолсульфохлаорида не увеличивает выхода продукта (III).

Обработка эфира (III) метанолом (16 ч при 20° С), полунасыщенным при 0° С аммиаком, приводит к удалению N^6 -бензоильной группы без затрагивания β -цианэтильной [4]. Циклофосфат (IV) с выходом 48% выделен хроматографией на DEAE-целлюлозе аналогично соединению (III). R_f 0,48. ПМР-спектр (D_2O), δ , м. д.: 8,34с (2Н; 8-Н и 2-Н); 6,42с (1Н; 1'-Н); 4,13к (2Н, J 6,5 Гц; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$); 2,84т (2Н, J 6,5 Гц; $\text{OCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$). ^{31}P -ЯМР-спектр (D_2O), δ , м. д.: $-1,02\text{с}$; $-1,85\text{с}$.

Щелочной гидролиз цианэтилового эфира (IV) 1 н. NaOH в течение 5 мин при 20° С с последующей хроматографией на DEAE-целлюлозе позволил получить нуклеотид (V) с выходом 66%. Элюирующая концентрация NH_4HCO_3 0,19 М. R_f 0,12. ПМР-спектр (D_2O), δ , м. д.: 8,37с (2Н; 8-Н и 2-Н); 6,44с (1Н; 1'-Н). ^{31}P -ЯМР-спектр (D_2O), δ , м. д.: $-0,06\text{с}$; $-1,65\text{с}$.

Структура синтезированных соединений (III)–(V) подтверждена данными ЯМР-спектров. Близкие к нулю константы спин-спиновой взаимодвижения $J_{1',2'}$ являются типичными для нуклеозид-3',5'-циклофосфатов [5]. Наличие в спектрах ^{31}P -ЯМР нуклеотидов (III)–(V) двух сигналов, лежащих в областях, характерных для диэфиров и моноэфиров фосфорной кислоты [6], доказывает наличие в молекулах двух остатков фосфорной кислоты. УФ-спектры циклофосфатов (IV) и (V) идентичны спектрам cAMP. Независимое подтверждение структуры синтезированных соединений было получено гидролизом соединения (V) щелочной фосфатазой *E. coli* до cAMP.

В заключение следует отметить, что в литературе имеются указания на образование аденозин-2',3',5'-трифосфата в качестве побочного продукта с выходом 3% при фосфорилировании аденозина дибензилхлорфосфатом [7]. Однако структура этого соединения, содержащего одновременно 2'- и 3'-фосфатные остатки, не была окончательно установлена. Суммируя данные, полученные в работе [7] и в настоящем сообщении, можно сделать вывод о возможности прямого синтеза нуклеозид-2',3'-дифосфатов.

ЛИТЕРАТУРА

1. Ball L. A., White C. N. In: Regulation of macromolecular synthesis by low molecular weight mediators/Eds Koch G., Richter D. New York: Academic Press, 1979, p. 303–317.
2. Cayley P. J., Kerr I. M. Eur. J. Biochem., 1982, v. 122, № 3, p. 601–608.
3. Tener G. M. J. Amer. Chem. Soc., 1961, v. 83, № 1, p. 159–168.
4. Крицын А. М., Михайлов С. Н., Колобушкина Л. И., Падюкова Н. Ш., Флорентьева В. Л. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1975, № 8, с. 1846–1850.
5. Davies D. B. Progress in NMR Spectroscopy, 1978, v. 12, № 3, p. 135–225.
6. Cozzone P. J., Jardetzky O. Biochemistry, 1976, v. 15, № 22, p. 4853–4859.
7. Baddiley J., Buchanan J. G., Letters R. J. Chem. Soc., 1958, № 3, p. 1000–1007.

Поступило в редакцию
10.IX.1982

A NEW CLASS OF ADENOSINE 3', 5'-CYCLIC PHOSPHATE ANALOGUES. SYNTHESIS OF 2'-PHOSPHATE OF ADENOSINE 3', 5'-CYCLIC PHOSPHATE

KARPEISKY M. Ya., MIKHAILOV S. N., PADYUKOVA N. Sh.

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

New analogues of cAMP, namely 2'-phosphate of cAMP and its esters, were obtained by direct phosphorylation of N^6 -benzoyladenine 3',5'-cyclic phosphate with 2-cyanoethyl phosphate in the presence of DCC followed by the removal of protecting groups.