



УДК 547.963.32.057

© 1990 г.

А. Г. Веньяминова, З. А. Косолапова, М. Н. Репкова

ОЛИГО(2'-О-МЕТИЛРИБОНУКЛЕОТИДЫ) И ИХ ПРОИЗВОДНЫЕ

I. АВТОМАТИЧЕСКИЙ СИНТЕЗ

ОЛИГО(2'-О-МЕТИЛРИБОНУКЛЕОТИДОВ) ЧЕРЕЗ Н-ФОСФОНАТЫ

Новосибирский институт биоорганической химии СО АН СССР

Н-Фосфонатный метод применен для эффективного синтеза олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов), обладающих комплексом химических и биологических свойств, полезных при конструировании РНК-зондов различной химической природы. 2'-О-Метильную группу вводили в защищенные рибонуклеозиды действием иодистого метила в присутствии окиси серебра с последующим удалением временной 3',5'-О-(тетраизопротилдисулfoxан-1,3-диильной) защитной группы. Для выделения 2'-О-метилрибонуклеозидов использована обращенно-фазовая хроматография. 5'-О-Диметокситритил-2'-О-метилрибонуклеозид-3'-Н-фосфонаты (новые представители класса Н-фосфонатов) получены путем взаимодействия защищенных нуклеозидов с салицилхлорфосфином и последующей обращенно-фазовой хроматографии. Пиримидиновые олиго(2'-О-метилрибонуклеотиды) длиной от 6 до 15 звеньев синтезировали на отечественном приборе «Виктория-5М». Средний выход на стадию 70—84%, общий выход — от 9 до 28%.

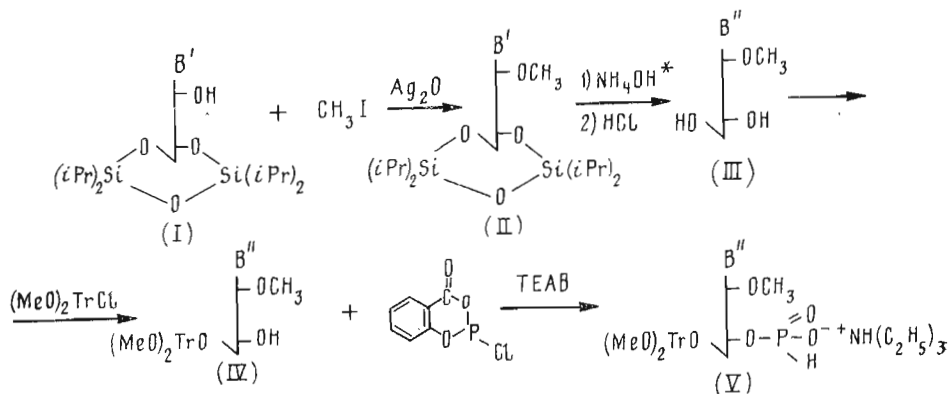
В связи с развитием эффективных методов твердофазного химического синтеза олигорибонуклеотидов в последние годы вновь возник интерес к 2'-О-метилсодержащим аналогам олигорибонуклеотидов, обладающим комплексом полезных химических и биологических свойств (см. [1] и цитированные там работы). Эти аналоги имеют практически ту же конформацию двойной спирали, что и обычные олигорибонуклеотиды; термическая стабильность дуплексов с участием 2'-О-метилрибонуклеотидов столь же высока, как и в случае обычных олигорибонуклеотидов. С другой стороны, наличие метильной группы в 2'-положении рибозного кольца делает эти олигорибонуклеотиды устойчивыми к действию щелочных агентов и рибонуклеаз. Подобное сочетание свойств 2'-О-метильных производных позволяет считать их удачной альтернативой олигорибонуклеотидам в ряде случаев. Весьма важно и то, что вследствие высокой стабильности 2'-О-метильной группы, ее малого размера и соответственно малой стерической затрудненности реакций фосфорилирования [2] синтез олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов) по сути аналогичен синтезу олигодезоксирибонуклеотидов.

В ряде работ, появившихся в 1987—1988 гг., описан синтез 2'-О-метилированных олигорибонуклеотидов и их применение для молекулярно-биологических целей. В работах Оцуки [1, 3—5] с помощью химерных (2'-О-метил-РНК)-ДНК-олигомеров было проведено сайт-специфическое расщепление фрагментов РНК РНКазой H. Другой интересный пример использования таких аналогов описан в работе [6], где на основе синтетических олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов) были сконструированы химерные адаптеры для направленной делеции ДНК нуклеазой Bal31. Синтез 2'-О-метилированных олигорибонуклеотидов был выполнен твердофазным методом по фосфотриэфирной [1] и фосфитамидной [6] схемам синтеза.

Сокращения: Nm — 2'-О-метилрибонуклеозид, Py — пиримидин, Thr — тетрагидропиранил, PivCl — пивалоилхлорид, iPr — изопропил, TTPDS — тетраизопротилдисулfoxан-1,3-диил, ФДЭ — фосфодиестераза.

Нами предложено использовать для синтеза таких аналогов более эффективный Н-фосфонатный метод, известные преимущества которого [7, 8] позволяют получать целевые олиго(2'-О-метилрибонуклеотиды) с минимальным количеством стадий.

Исходные 2'-О-метилрибонуклеозиды (III) получали путем алкилирования иодистым метилом в присутствии избытка Ag_2O 3',5'-О-(тетраизопротилдисилоксан-1,3-диил)рибонуклеозидных производных в соответствии с сообщением [5]:



где $B' = bz^4Cyt$ (а) или bz^3Ura (б), $B'' = bz^4Cyt$ (а) или Ura (в).

* Обработка проводится в случае $B' = bz^3Ura$.

N^3 -Бензоил-3',5'-О-(TIPDS)уридин (Iв) для этого синтеза получали, несколько изменив методику, описанную в работе [5]: в реакции бензоилирования 3',5'-О-(TIPDS)уридина использовали катализ N-метилмидазолом, что позволило значительно сократить время реакции.

Полученные в результате реакции метилирования соединения (IIа и б) выделяли адсорбционной хроматографией на силикагеле с выходом 70—80%. Для выделения 2'-О-метилрибонуклеозидов (IIIа, в) мы использовали обращенно-фазовую хроматографию, что позволило значительно снизить потери вещества на этой стадии и получить целевой продукт с высокой степенью чистоты. Наличие метильной группы в 2'-положении рибозного кольца подтверждали с помощью спектров протонного магнитного резонанса. Характеристики синтезированных 2'-О-метилрибонуклеозидов совпали с литературными [5].

Взаимодействием салицилхлорфосфина [9] с соответствующим образом защищенными нуклеозидами (IVа, в) были синтезированы и выделены в условиях, описанных нами ранее [10], новые представители класса Н-фосфонатов — N^4 -бензоил-5'-О-диметокситритил-2'-О-метилцитидин-3'-Н-фосфонат (Va) и 5'-О-диметокситритил-2'-О-метилуридин-3'-Н-фосфонат (Vв). Выходы и характеристики защищенных рибонуклеозид-3'-Н-фосфонатов приведены в табл. 1.

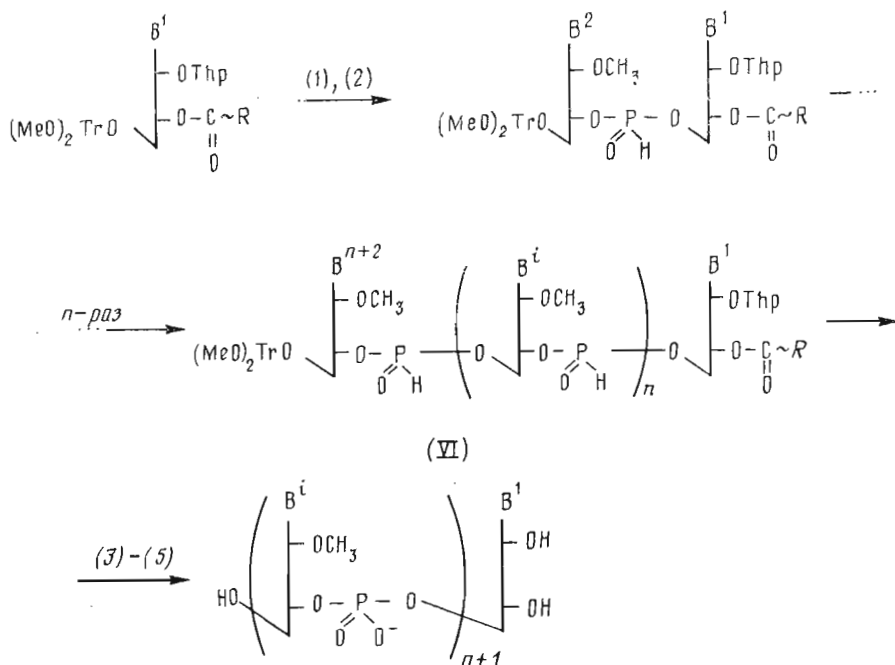
Таблица 1

Выходы и характеристики
5'-О-диметокситритил-2'-О-метилрибонуклеозид-3'-Н-фосфонатов (V)

Соединение	Выход, %	31P -ЯМР δ , м. д.	ТСХ, R_f		УФ-Спектр (EtOH), нм				Обращенно-фазовая МКХ	
			система		λ_{max}	λ_{min}	$\frac{\epsilon_{210}}{\epsilon_{260}}$	$\frac{\epsilon_{280}}{\epsilon_{260}}$	время удерживания, мин	хроматограф. чистота, %
			Б	Г						
(Va)	94	0,69	0,3	0,44	260	250	0,94	0,40	10,4	98
(Vв)	93	1,52	0,2	0,46	304 262	292 256	1,30	0,34	7,6	90

* 31P -ЯМР-спектры сняты в смеси пиридин — CH_3CN (1 : 1); $J_{P, H} = 610$ Гц.

Полученные Н-фосфонаты (Va, в) были использованы для автоматического синтеза ряда олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов) на синтезаторе «Виктория-5М» с модифицированной схемой.



(VIa) — (Ump)₅U; (VIIб) — (Cmp)₅C

(VIIв) — (CmpCmpUmp)₄CmpCmpU,

R — полимерный носитель.

- (1) 1% CHCl₂CO₂H в CH₂Cl₂.
- (2) 25 mM (V), 75 mM PivCl в Py/CH₃CN.
- (3) 0,2 M I₂ в Py/H₂O.
- (4) NH₄OH конц.
- (5) 0,01 M HCl.

В качестве полимерного носителя использовали стекло СРГ-500 с емкостью по первому присоединяемому нуклеозидному звену ~30 мкмоль/г. Нуклеозидным звеном, связанным с полимерным носителем, могут служить рибонуклеозиды, содержащие 2'-О-метильную или, как, например, в нашем случае, 2'-О-тетрагидропиранильную группу, что позволяет после удаления защитных групп синтезировать 2'-О-метилолигомеры с терминальной 2',3'-цис-диольной группировкой и в дальнейшем использовать их для получения производных по 3'-концу. Цикл присоединения одного нуклеотидного звена состоял из двух операций, детритилирования и конденсации (табл. 2), и занимал вместе с промывками 7 мин.

Таблица 2

Карта-схема операций на синтезаторе «Виктория-5М»

Операция	Реагент, растворитель	Время
1. Промывка	CH ₃ CN	20 с
2. Деблокирование	1% CHCl ₂ COOH в CH ₂ Cl ₂	2 мин
3. Промывка	CH ₃ CN абс.	20 с
4. Дозирование мономеров и коад. агента	0,025 M (Va, в) 0,075 M PivCl в CH ₃ CN — Py (1 : 1)	30 с 3 раза порциями по 60 мкл
5. Конденсация		3 мин 30 с
6. Промывка	CH ₃ CN	20 с

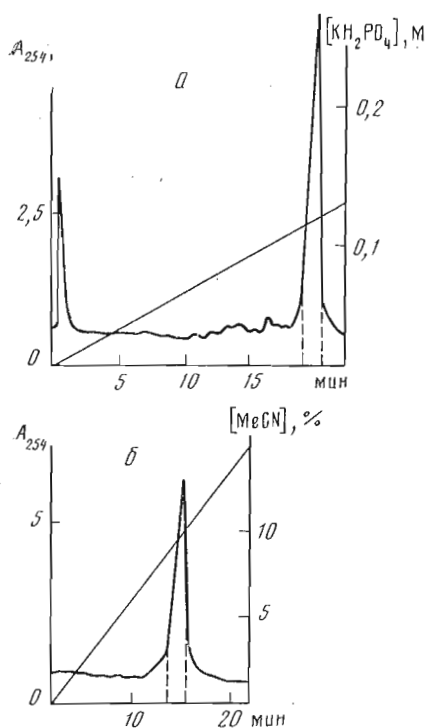


Рис. 1. Профили ВЭЖХ реакционных смесей при синтезе $(Cmp)_5C$: а — колонка $(4,6 \times 250 \text{ мм})$ с Полисил-СА [11], градиент концентрации KH_2PO_4 $(0 \rightarrow 0,3 \text{ М})$ в 30% MeCN, скорость элюции 3 мл/мин; б — колонка $(4,6 \times 250 \text{ мм})$ с Lichrosorb RP-18, градиент концентрации MeCN в 0,5 М $LiClO_4$, скорость элюции 2 мл/мин

менем пик вещества, соответствующий по месту выхода и спектральным данным (не приводятся) неметилированному цитидину.

Таблица 3

Выходы олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов)

Олигонуклеотид	Выход, %		ОЕ ₂₅₀
	общий	средний на стадию	
$(Ump)_5U$	16	70	4,6
$(Cmp)_5C$	28	78	12,8
$(CmpCmpUmp)_4CmpCmpU$	9	84	4,5

Таким образом, продемонстрирован эффективный автоматический Н-фосфонатный синтез олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов), позволяющий быстро и с высоким выходом получать аналоги олигорибонуклеотидов, которые могут служить основой для конструирования РНК-зондов различной химической природы и для решения других молекулярно-биологических задач.

Экспериментальная часть

В работе использованы нуклеозиды (Reanal, Венгрия), 1,3-дихлоро-1,1,3,3-тетраизопротилдисулfoxан, пивалоилхлорид (Sigma, США), N-метилимидазол, PCl_3 , иодистый метил, дихлоруксусную кислоту (Fluka, Швейцария). Остальные реактивы и растворители — отечественного производства. Абсолютные растворители готовили стандартными методами.

После проведения необходимого числа циклов связанный с полимером защищенный олигорибонуклеозид-Н-фосфонат (VI) окисляли раствором иода в водном пиридине до соответствующего фосфата. Последний обрабатывали последовательно конц. NH_4OH для удаления с полимера и гидролиза защитных групп с оснований и 0,01 М HCl для гидролиза $(MeO)_2Tg$ -группы с 5'-конца и Thr-группы с 3'-конца.

В результате ионообменной и обращенно-фазовой ВЭЖХ гидролизатов были выделены олигонуклеотиды $(Cmp)_5C$ (VIIa) и $(Ump)_5U$ (VIIб) (рис. 1). Пентадекануклеотид регулярного строения $(CmpCmpUmp)_4CmpCmpU$ (VIIв) выделяли путем двух обращенно-фазовых хроматографий до и после удаления кислотолabileльных защитных групп (рис. 2). Выходы синтезированных олигонуклеотидов представлены в табл. 3.

Нуклеотидный состав олигонуклеотидов подтверждали с помощью гидролиза смесью фосфодиэстеразы и 5'-нуклеотидазы из яда кобры с последующим количественным анализом обращенно-фазовой МКХ (см. «Экспериментальную часть» и рис. 3). Необходимо отметить, что при увеличении времени гидролиза в гидролизате появляется и растет со временем пик вещества, соответствующий по месту выхода и спектральным

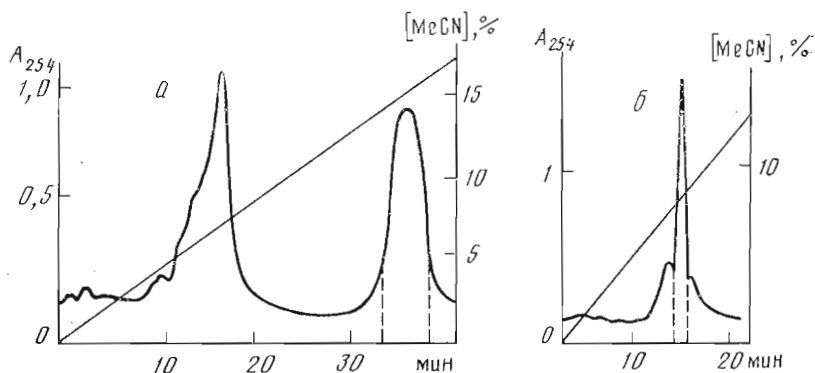


Рис. 2. Профили обращенно-фазовой ВЭЖХ реакционной смеси при синтезе $(\text{СтрСтрУмр})_4\text{СтрСтрУ}$ до (а) и после (б) удаления кислото-лабильных защитных групп, колонка $(4,6 \times 250 \text{ мм})$ с Lichrosorb RP-18, скорость элюции 2 мл/мин; градиент концентрации MeCN в 0,05 М LiClO_4 , оттитрованном триэтиламином до pH 8 ($\sim 0,01\%$)

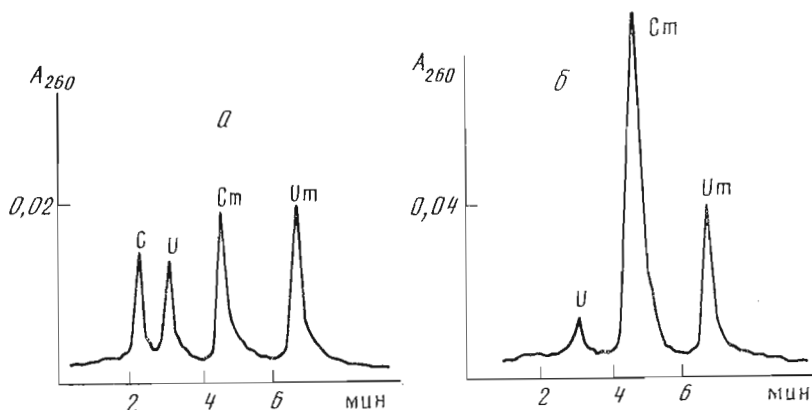


Рис. 3. Профили обращенно-фазовой МРХ на колонке с Silasorb C-18 $(2 \times 62 \text{ мм})$ в градиенте концентрации MeOH (0—10%) в 0,02 М аммоний-ацетатном буфере (pH 5): а — смесь нуклеозидов-маркеров C, U, Cm, Um; б — гидролизат олигонуклеотида $(\text{СтрСтрУмр})_4\text{СтрСтрУ}$

Оксид серебра получали согласно [12]. Салицилхлорфосфин получали осторожным нагреванием салициловой кислоты с PCl_3 и последующей перегонкой, т. кип. $127^\circ \text{C}/1 \text{ мм}$ [13]. Пористое стекло CPG-500 (120—200 меш; Fluka, Швейцария) модифицировали согласно методике [10].

Рибонуклеозид-Н-фосфонаты выделяли обращенно-фазовой хроматографией среднего давления (стальная колонка $30 \times 350 \text{ мм}$, SilasorbC-18 (15 мкм, Chemapol, ЧССР), насос МР-50 (СКБ АН ЭССР)). Анализ и идентификацию веществ проводили с помощью ТСХ на DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck, ФРГ) в системах растворителей: CHCl_3 — EtOH, 8 : 2 (А), CHCl_3 — EtOH — TEA, 5,9 : 4 : 0,1 (Б), CHCl_3 — EtOH, 9 : 1 (В), CH_3CN — H_2O , 1 : 1 (Г).

Для адсорбционной хроматографии использовали силикагель L 40/100 (Chemapol, ЧССР). Микроколоночную хроматографию проводили на жидкостном микроколоночном хроматографе «Миллихром» (отечественного производства) на сорбенте Lichrosorb RP-18 (5 мкм; Merck, ФРГ; колонка $2 \times 62 \text{ мм}$) в градиенте концентрации метанола в 0,02 М ацетате аммония, pH 5 (скорость потока 100 мкл/мин). Олигорибонуклеотиды выделяли на хроматографе Altex (США). Для синтеза олигонуклеотидов использовали автоматический синтезатор «Виктория-5М» с вставкой для Н-фосфонатного метода (СКТБ СЭ и АН СО АН СССР). Для ферментативного гидролиза использовали ФДЭ (КФ 3.1.4.1) и 5'-нуклеотидазу (КФ 3.1.3.5) из яда кобры, любезно предоставленные В. И. Ямковым (НГУ).

^1H - и ^{31}P -ЯМР-спектры снимали на спектрометре НХ-90 (Bruker,

ФРГ). ^{31}P -ЯМР-спектры записывали на частоте 36,43 МГц (химические сдвиги (м. д.) приведены относительно 85%-ной H_3PO_4 как внешнего стандарта) с гетероядерным подавлением спин-спинового взаимодействия ^{31}P - $\{^1\text{H}\}$ и без него. ^1H -ЯМР-спектры записывали на частоте 90 МГц, химические сдвиги (м. д.) приведены относительно сигналов дейтерированных растворителей. УФ-спектры поглощения снимали на спектрофотометре Specord UV VIS (Carl Zeiss, ГДР).

*N*³-Бензоил-3',5'-О-(тетраизопропилдисилоксан-1,3-диил)уридин (Iб) получали по модифицированной методике [5], используя для бензоилирования 3',5'-О-TIPDS-уридина смесь 1,1 экв. бензоилхлорида и 0,5 экв. N-метилимидазола. Время реакции 1,5 ч. Выход после хроматографии на силикагеле 86%. R_f 0,45 (В).

*N*³-Бензоил-2'-О-метил-3',5'-О-(тетраизопропилдисилоксан-1,3-диил)уридин (IIб) получали по методике [5]. Выход после хроматографии на силикагеле 40%, R_f 0,62 (В). ^1H -ЯМР-спектр (CDCl_3): 8,1—7,2 (6H, м, 6-Н и Вz); 5,82 (1H, д, 5-Н); 5,78 (1H, с, 1-Н); 4,2—3,8 (5H, м, 2',3',4',5'-Н); 3,66 (3H, с, 2'-ОСН₃); 0,99 (28H, м, TIPDS). Лит. [5]: ^1H -ЯМР-спектр (CDCl_3 , δ , м. д., относительно ТМС): 8,1—7,3 (6H, м, 6-Н и Вz), 5,80 (1H, д, 5-Н); 5,76 (1H, с, 1-Н); 4,5—3,9 (5H, м, 2',3',4',5'-Н); 3,60 (3H, с, 2'-ОСН₃); 1,1 (28H, м, TIPDS).

2-О-Метилуридин (IIIб) получали так же, как в [5], за исключением того, что для выделения продукта из реакционной смеси после удаления защитных групп использовали обращенно-фазовую хроматографию среднего давления на Silasorb C-18 (колонка 30 × 350 мм) в градиенте концентрации этанола в воде. Выход 2'-О-метилуридина 35%. R_f 0,30 (А). Обращенно-фазовая МРХ (условия см. рис. 3): время удерживания 6,6 мин, хроматографическая чистота 96%, спектральные соотношения: $\epsilon_{250}/\epsilon_{260}$ 0,75, $\epsilon_{280}/\epsilon_{260}$ 0,38. УФ-спектр (этанол): λ_{max} 260 нм, λ_{min} 230 нм. Лит. [5]: УФ-спектр (метанол): λ_{max} 261 нм, λ_{min} 232 нм.

*N*⁴-Бензоил-2'-О-метилцитидин (IIIа) получали по методике [5]. Выделение проводили с помощью препаративной обращенно-фазовой хроматографии, как это описано для 2'-О-метилуридина. Выход 40%. R_f 0,53 (А). Обращенно-фазовая МРХ (условия см. выше): время удерживания 20,2 мин, хроматографическая чистота 98%, спектральные соотношения: $\epsilon_{250}/\epsilon_{260}$ 0,82, $\epsilon_{280}/\epsilon_{260}$ 0,46. УФ-спектр (этанол): λ_{max} 260, 304 нм, λ_{min} 286 нм. Лит. [5]: УФ-спектр (этанол): λ_{max} 259, 303 нм, λ_{min} 284 нм. ^1H -ЯМР-спектр ($\text{DMSO}-d_6$): 11,3 (1H, с, N⁴-H); 8,5 (1H, д, 6-Н); 7,9 (1H, д' 5-Н); 7,4—7,2 (5H, м, Вz); 5,86 (1H, д, 1-Н); 5,15 (2H, м, 3',5'-ОН); 4,1—3,7 (5H, м, 2',3',4',5'-Н); 3,48 (3H, с, 2'-ОСН₃). Лит. [5]: ^1H -ЯМР-спектр ($\text{DMSO}-d_6$ относительно ТМС): 11,2 (1H, с, N⁴-H); 8,55 (1H, д, 6-Н); 8,1—7,2 (6H, м, 5-Н и Вz); 5,89 (1H, д, 1-Н); 5,2 (2H, м, 3',5'-ОН); 4,2—3,6 (5H, м, 2',3',4',5'-Н); 3,48 (3H, с, 2'-ОСН₃).

5'-О-Диметокситритил-2'-О-метилрибонуклеозид-3'-Н-фосфонаты (Va, в) [10]. Диметокситритильную группу в соединения (IIIа, в) вводили стандартными методами. Выходы (IVа, в) 80—85%. R_f (IVа) 0,61, R_f (IVв) 0,50 (В). Далее к раствору 1 ммоль защищенного нуклеозида (IVа, в) в смеси 3 мл абсолютного диоксана и 1 мл N-метилморфолина добавляли 1 мл 1,25 М раствора салицилхлорфосфина в диоксане. Через 10 мин к реакционной смеси добавляли 2 мл 1 М ТЕАВ (рН 8,5) и полученный раствор хроматографировали на Silasorb C-18, используя линейный градиент концентрации этанола в 0,01 М ТЕАВ (рН 8,5). Объединенные фракции упаривали досуха с абс. ацетонитрилом. Выходы и характеристики полученных соединений приведены в табл. 1.

Синтез олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов). Присоединение первого нуклеозидного звена к полимерному носителю проводили как описано в работе [14]. Для олигонуклеотидного синтеза использовали 15 мг полимера с емкостью по присоединенному 5'-О-диметокситритил-2'-О-тетрагидропиранилуридину 35 мкмоль/г и по присоединенному N⁴-бензоил-5'-О-диметокситритил-2'-О-тетрагидропиранилцитидину 28 мкмоль/г. Цикл присоединения одного нуклеотидного звена проводили согласно картесхеме операций, представленной в табл. 2. По завершении синтеза олиго-

(нуклеозид-Н-фосфонат), связанный с полимером, обрабатывали 30 мин свежеприготовленным 0,2 М I_2 в смеси $Pu-H_2O$ (98 : 2), затем промывали ацетоном и высушивали.

Удаление защитных групп и выделение олигорибонуклеотидов. а) Полимерный носитель с присоединенными защищенными гексарибонуклеотидами заливали 1 мл конц. NH_4OH и выдерживали 16 ч при $55^\circ C$. Раствор декантировали, полимер промывали несколько раз водным этанолом, упаривали досуха, добавляли 1 мл 0,01 М HCl (рН 2) и выдерживали 2 ч при $50^\circ C$. Смесь нейтрализовали разбавленным NH_4OH и хроматографировали на колонке с ионообменной смолой (рис. 1а). Фракцию, содержащую целевой продукт, упаривали, растворяли в H_2O и подвергали обращенно-фазовой хроматографии (рис. 1б) с последующим выделением олигонуклеотидов в виде литиевых солей путем осаждения из водного раствора в 2% $LiClO_4$ в ацетоне [15].

б) Полимерный носитель с присоединенным 5'-О-диметокситриглицеридом, содержащим пентадекарбонуклеотидом заливали 1 мл конц. NH_4OH . Реакционную смесь выдерживали 16 ч при $55^\circ C$, декантировали раствор, промывали полимер несколько раз водным этанолом, добавляли 0,5 мл 0,1 М трис- HCl (рН 10) и упаривали досуха. Остаток растворяли в H_2O и проводили обращенно-фазовую хроматографию в градиенте концентрации ацетонитрила от 0 до 30% в 0,05 М $LiClO_4$, оттитрованном до рН 8 добавлением триэтиламина. Фракцию, содержащую целевой продукт (рис. 2а), упаривали, выдерживали 2 ч при рН 2 (0,01 М HCl) и $50^\circ C$, затем нейтрализовали NH_4OH , экстрагировали эфиром и проводили обращенно-фазовую хроматографию (рис. 2б) с последующим выделением олигонуклеотида в виде литиевой соли как описано выше.

Определение нуклеотидного состава олиго(2'-О-метилрибонуклеотидов). К 0,5 ОЕ₂₆₀ олигонуклеотида в 100 мкл H_2O добавляли 6 мкл буфера (0,1 М трис- HCl , 5 мМ $MgCl_2$, рН 8,4) и 14 мкл смеси ФДЭ и 5'-нуклеотидазы из яда кобры в 0,02 М трис- HCl (рН 7,8) в 50% глицерине. Смесь инкубировали 1 ч при комнатной температуре, прогревали 2 мин при 100° и анализировали методом обращенно-фазовой МРХ (рис. 3). Времена удерживания нуклеозидов на колонке (2,5; 3,2; 4,7 и 6,8 мин для С, У, См и Um соответственно) и их спектральные характеристики ($\epsilon_{250/260}$ и $\epsilon_{280/260}$ равны 0,83 и 1,05; 0,75 и 0,37; 0,84 и 1,07; 0,75 и 0,38 для С, У, См и Um соответственно) совпадают с характеристиками нуклеозидов-маркеров. Количественный анализ соотношения нуклеозидов в гидролизатах проводили путем измерения площадей пиков на хроматограмме. Получены следующие молярные соотношения: для (VIIб) С : См = 1 : 5,3; для (VIIв) У : См : Um = 1 : 9,9 : 4,1.

Авторы благодарят В. В. Горна за помощь в работе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Inoue H., Hayase Y., Asaka M., Imura A., Iwai S., Miura K., Ohtsuka E. // Nucl. Acids Res. Symp. Ser. № 16. 1985. P. 165—168.
2. Kierzek R., Rozek M., Markiewicz W. T. // Bull. Acad. pol. sci. Chem. 1987. V. 35. № 11—12. P. 507—516.
3. Inoue H., Hayase Y., Iwai S., Ohtsuka E. // Nucl. Acids Res. Symp. Ser. № 18. 1987. P. 221—224.
4. Inoue H., Hayase Y., Iwai S., Ohtsuka E. // FEBS Lett. 1987. V. 215. № 2. P. 327—300.
5. Inoue H., Hayase Y., Iwai S., Ohtsuka E., Imura A., Miura K., Asaka M. // Nucl. Acids Res. 1987. V. 15. № 15. P. 6163—6148.
6. Mikai S., Shibahara S., Morisawa H. // Nucl. Acids Res. Symp. Ser. № 19. 1988. P. 117—120.
7. Garegg P. J., Lindh I., Regberg T., Stawinski J., Stromberg R., Henrichson C. // Tetrahedron Lett. 1986. V. 27. № 34. P. 4051—4058.
8. Веньяминова А. Г., Левина А. С., Косолапова З. А., Пенкова М. Н. // Биоорганич. химия. 1987. Т. 13. № 11. С. 1580—1590.
9. Marugg J. E., Tromp M., Kuyil-Yehenskiely E., van der Marel G. A., van Boom J. H. // Tetrahedron Lett. 1986. V. 27. № 23. P. 2661—2664.
10. Веньяминова А. Г., Комарова Н. И., Левина А. С., Пенкова М. Н. // Биоорганич. химия. 1987. Т. 14. № 4. С. 484—489.

11. Ястребов С. И. Способ получения сорбента: А. с. 1153976 СССР // Б. И. 1985. № 17. С. 28.
12. Карякин Ю. В., Ангелов И. И. Чистые химические вещества. М.: Химия, 1974. С. 336.
13. Anschütz R., Emery W. O. // J. Liebigs Ann. Chem. 1887. В. 239. № 3. S. 301—313.
14. Ломакин А. И., Ястребов С. И., Попов С. Г. // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. № 7. С. 920—927.
15. Барам Г. И., Грачев С. А. // Биоорган. химия. 1985. Т. 11. № 10. С. 1420—1422.

Поступила в редакцию
4.VIII.1989

A. G. VENJAMINOVA, Z. A. KOSOLAPOVA, M. N. REPKOVA

OLIGO(2'-O-METHYLRIBONUCLEOTIDES) AND THEIR DERIVATIVES.

I. AUTOMATIC H-PHOSPHONATE SYNTHESIS OF
THE OLIGO(2'-O-METHYLRIBONUCLEOTIDES) VIA H-PHOSPHONATES

*Institute of Bioorganic Chemistry, Siberian Division,
Academy of Sciences of the USSR, Novosibirsk*

New representatives of the H-phosphonate's class, N-acyl-2'-O-methyl-5'-O-dimethoxytritylribonucleoside 3'-H-phosphonates, were synthesized via salicylchlorophosphine and used for the automatic synthesis of oligo(2'-O-methylribonucleotides). The efficiency of the method was demonstrated by the synthesis of a number of pyrimidine ligomers with chain length from 6 to 15 monomers.