



УДК 547.963.32.05:577.113.6

5-ЗАМЕЩЕННЫЕ 2'-ДЕЗОКСИУРИДИНЫ В СИНТЕЗЕ
МЕЖНУКЛЕОТИДНОЙ СВЯЗИ,
КАТАЛИЗИРУЕМОМ РИБОНУКЛЕАЗАМИ

Соболева И. А., Хабарова М. И., Женодарова С. М.

Институт биологической физики Академии наук СССР, г. Пущино Московской обл.

Мельник С. Я., Преображенская М. Н.

Всесоюзный онкологический научный центр
Академии медицинских наук СССР, Москва

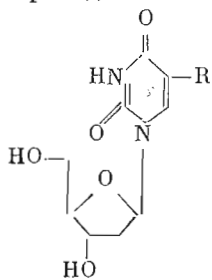
Аномерные 5-(α -оксигексафторизопронил)-2'-дезоксинуридины, α -аномер 5-перфторизопронил-2'-дезоксинуридина, а также 5-фтор-, 5-триметилсилил-2'-дезоксинуридин, 2'-дезокситимидин и 2'-дезоксинуридин использованы как акцепторы фосфата в реакции образования межнуклеотидной связи, катализируемой малоспецифичной рибонуклеазой *Penicillium brevicompactum* и панкреатической рибонуклеазой. Донорами фосфата служили А>р в первом случае и С>р — во втором. Динуклеозидмонофосфаты были получены для всех изученных β -дезоксинуклеозидов; α -аномеры ввести в реакцию не удалось. Синтезированы аденилил(3'-5')-5-(α -оксигексафторизопронил)-2'-дезоксинуридин, аденилил(3'-5')-5-триметилсилил-2'-дезоксинуридин, аденилил(3'-5')-5-фтор-2'-дезоксинуридин, аденилил(3'-5')-2'-дезокситимидин, аденилил(3'-5')-2'-дезоксинуридин, цитидил(3'-5')-5-(α -оксигексафторизопронил)-2'-дезоксинуридин и цитидил(3'-5')-5-триметилсилил-2'-дезоксинуридин с выходами 3–10%. Введение заместителя в положение 5 урацильного кольца приводит к снижению акцепторной активности 2'-дезоксинуридинов по отношению к общим ферментам.

Аналоги дезокси-нуклеозидов представляют интерес как потенциальные противовирусные и противоопухолевые агенты [1–3]. Эти соединения активируются в клетке с образованием моно-, ди- и трифосфатов. Весьма интересными и значительно менее изученными моделями для исследования механизма действия антиметаболитов нуклеозидной природы — возможных ингибиторов ферментов, участвующих в метаболизме нуклеиновых кислот, — являются олигонуклеотиды, и прежде всего динуклеозидмонофосфаты, содержащие те или иные нуклеозидные аналоги. Их можно, в частности, использовать при изучении инициации синтеза РНК наряду с олигонуклеотидами, служащими затравками [4]: ингибирование реализации генетической информации на уровне транскрипции может стать одним из подходов к лечению онкологических и вирусных заболеваний.

В настоящей работе мы изучили включение 5-замещенных 2'-дезоксинуридинов, в частности аномерных 5-(α -оксигексафторизопронил)-2'-дезоксинуридинов [5] и α -аномера 5-перфторизопронил-2'-дезоксинуридина [6, 7] в олигонуклеотиды в присутствии ферментов нуклеинового обмена — рибонуклеаз. Перечисленные выше соединения, а также 5-фтор-2'-дезоксинуридин, 2'-дезокситимидин и 2'-дезоксинуридин были использованы в качестве акцепторов фосфата в реакции с нуклеозид-2',3'-циклофосфатами в присутствии малоспецифичной рибонуклеазы *Pen. brevicompactum* и пиримидинспецифичной панкреатической рибонуклеазы. В первом случае (рибонуклеаза *Pen. brevicompactum*) донором фосфата служил аденозин-2',3'-циклофосфат, во втором — цитидин-2',3'-циклофосфат. Структуры

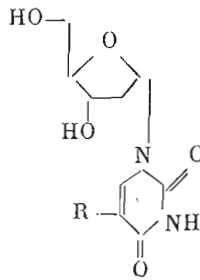
Н и Н' в сокращенных обозначениях динуклеозидмонофосфатов — остатки нуклеозидов (Ir) и (Id) соответственно; СМ-рибонуклеаза — рибонуклеаза, ковалентно связанная с СМ-целлюлозой. Остальные сокращения соответствуют правилам IUPAC-IUB.

акцепторов фосфата приведены на схеме.



(Ia — д)

- а) R=H
 б) R=CH₃
 в) R=F
 г) R=C(OH)(CF₃)₂ (N)
 д) R=Si(CH₃)₃ (N')



(IIa — б)

- а) R=C(OH)(CF₃)₂
 б) R=CF(CF₃)₂

Синтез динуклеозидмонофосфатов осуществляли в стандартных условиях [8, 9], реакционные смеси анализировали методами электрофореза и хроматографии на бумаге и УФ-спектрофотометрии. Результаты синтезов представлены в табл. 1, 2.

Динуклеозидмонофосфаты были получены для всех изученных β-дезоксинуклеозидов; α-аномеры ввести в реакцию не удалось. Хотя в литературе приводятся данные об участии α-нуклеозидов в качестве акцепторов фосфата в реакции образования межнуклеотидной связи [10], мы не обнару-

Таблица 1

Синтез динуклеозидмонофосфатов типа ApN, содержащих 5-замещенные 2'-дезоксипуридины, в присутствии малоспецифичной рибонуклеазы *Pen. brevicompactum*:
 [A>p] 0,125 M, [A>p]/[N]=1/3, [PHКаза] 0,45 ед. акт./мл

Нуклеозид-акцептор	Время синтеза, ч	Выход, %
(Ia)	12	10
(Iб)	12	4
(Iв)	1	3
(Iг)	2	7
(IIa)	0,5-24	0
(IIб)	0,5-24	0
(Iд)	2	6
(Iд)	13 *	5

* СМ-рибонуклеаза *Pen. brevicompactum*.

Таблица 2

Синтез динуклеозидмонофосфатов типа CpN, содержащих 5-замещенные 2'-дезоксипуридины, в присутствии панкреатической рибонуклеазы
 [C>p] 0,25 M, [N] 0,75 M, [PHКаза] 0,4 мг/мл

Нуклеозид-акцептор	Время синтеза, ч	Выход, %
(Ia)*	6	21
(Iв)*	24	26
(Iг)	5	6
(IIa)	1-24	0
(IIб)	1-24	0
(Iд)	24	3

* Данные работы [13].

жили даже следов соответствующих динуклеозидмонофосфатов. Это еще раз подтверждает важность строгой взаимной ориентации реакционного центра, которым является 5'-ОН-группа акцептора, и участка связывания акцептора на ферменте как для специфичной панкреатической, так и для малоспецифичной рибонуклеазы. Впервые были синтезированы следующие динуклеозидмонофосфаты: аденилил (3'-5')-5-фтор-2'-дезоксиринидин (Apf⁵U₅), аденилил (3'-5')-5-(α -оксигексафторизопропил)-2'-дезоксиринидин (ApN), аденилил(3'-5')-5-триметилсилил-2'-дезоксиринидин (ApN'), цитидилил (3'-5')-5-(α -оксигексафторизопропил)-2'-дезоксиринидин (CpN) и цитидилил (3'-5')-5-триметилсилил-2'-дезоксиринидин (CpN').

Ранее было установлено, что 2'-дезоксинуклеозиды могут быть использованы в качестве акцепторов фосфата в олигонуклеотидном синтезе, катализируемом рибонуклеазами [8, 11], и что 2'-дезоксцитидин, в частности, весьма эффективно включается в олигонуклеотид в присутствии рибонуклеазы *Pen. brevicompactum*: выход аденилил(3'-5')-2'-дезоксцитидина составляет ~33 % [9].

2'-Дезоксиридин (Ia) оказался значительно менее эффективным акцептором фосфата, чем 2'-дезоксцитидин (см. табл. 1). Введение заместителя в положение 5 урацила, как и для производных 2'-дезоксцитидина [12], уменьшает выход динуклеозидмонофосфата независимо от характера заместителя (электронодонорный или электроноакцепторный).

Поведение таких 5-замещенных производных 2'-дезоксиринидина, как (Iб, в), при образовании межнуклеотидной связи с участием панкреатической рибонуклеазы было изучено в работе [12]: введение как электронодонорного, так и электроноакцепторного заместителя практически не влияло на выход динуклеозидмонофосфата. Как следует из табл. 2, производные 2'-дезоксиринидина, содержащие большие по размерам заместители (α -оксигексафторизопропил, триметилсилил), оказались существенно менее эффективными акцепторами фосфата, чем ранее изученные соединения.

Модификация гетероциклического основания акцептора фосфата по положению 5, как легко себе представить, должна сопровождаться: 1) пространственным эффектом, связанным с заменой маленького по размерам атома Н на метильную, α -оксигексафторизопропильную или триметилсилильную группу; 2) перераспределением электронной плотности и связанным с этим изменением констант ионизации нуклеинового основания.

Сведения о распределении электронной плотности в молекулах изученных акцепторов фосфата могут быть получены из квантовохимических расчетов соответствующих производных урацила. На рис. 1 даны результаты такого расчета, проведенного В. М. Соболевым (лаборатория физики ферментных систем ИБФ АН СССР) в рамках стандартной версии метода CNDO/2 [13] для 5-замещенных производных урацила в соответствии с теми же принципами, которые были подробно изложены в работе [14]. Эти результаты позволяют легко объяснить значительную разницу в акцепторной активности 2'-дезоксцитидина и 2'-дезоксиринидина, так же как и соответствующих рибонуклеозидов, на основе предложенной ранее для рибонуклеазы *Pen. brevicompactum* схемы контактного участка, соответствующего акцептору фосфата [14]: при переходе от цитозина к урацилу вместо отрицательного заряда, локализованного на N3-атоме цитозинового кольца, в соответствующем участке акцептора, взаимодействующего с ферментом, появляется положительный заряд, локализованный на N3-атоме урацила. Это нарушает взаимодействие акцептора фосфата с одной из двух положительно заряженных групп, которые, согласно модели, имеются в контактном участке.

Данные о распределении электронной плотности в урацильном кольце с учетом предложенной в работе [14] схемы участка связывания акцептора фосфата позволяют также объяснить хорошо известную (см., например, работу [15]) разницу в скорости включения цитидина и уридина (и соответствующих дезоксирибонуклеозидов) в олигонуклеотид в присутствии панкреатической рибонуклеазы. Согласно этой схеме, продуктивное взаимодействие акцептора фосфата с панкреатической рибонуклеазой определя-

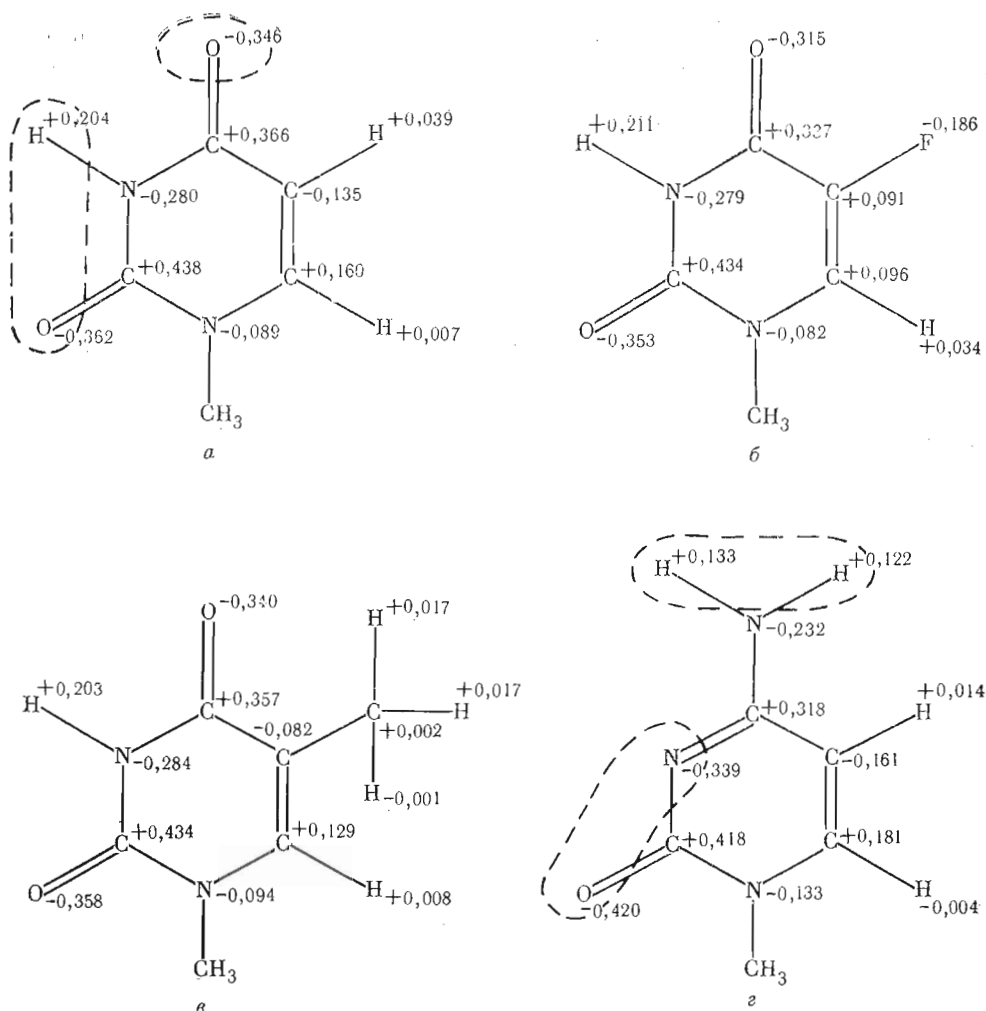


Рис. 1. Молекулярные диаграммы: *a* — урацил; *b* — 5-фторурацил; *c* — тимин; *d* — цитозин [15]. Пунктиром выделены участки, существенные для взаимодействия с ферментом [14]

ся, в частности, контактом заместителя у C4-атома с отрицательно заряженной группой фермента (возможно, с ионизированной карбоксильной группой остатка Glu¹⁴¹). В случае цитозина несущие положительный заряд N4-атомы обеспечивают взаимодействие с ферментом, тогда как отрицательный заряд, локализованный на O4-атоме урацила, затрудняет это взаимодействие, замедляя тем самым соответствующую реакцию.

С другой стороны, изменение распределения электронной плотности при появлении в положении 5 урацильного кольца таких разных заместителей, как CH₃-группа и атом фтора, практически не затрагивают O2- или N3-атомов, важных (в соответствии с моделью [14]) для взаимодействия акцептора фосфата с рибонуклеазой *Pen. brevicompactum* или O2- и O4-атомов, существенных для такого взаимодействия с панкреатической рибонуклеазой. Поэтому уменьшение выхода динуклеозидмонофосфатов, наблюдаемое в настоящей работе для 5-замещенных 2'-дезоксипуридинов, более правдоподобно объяснять пространственным влиянием заместителей.

Гомогенность выделенных динуклеозидмонофосфатов проверяли рехроматографией на бумаге в системе А и микроколоночной хроматографией на DEAE-целлюлозе (рис. 2). Характеристики этих соединений приведены в табл. 3.

При проведении микроколоночной хроматографии [16] в системе Томлинсона — Тенера [17] аденилил(3'-5')-5-(α -оксигексафторизопропил)-2'-

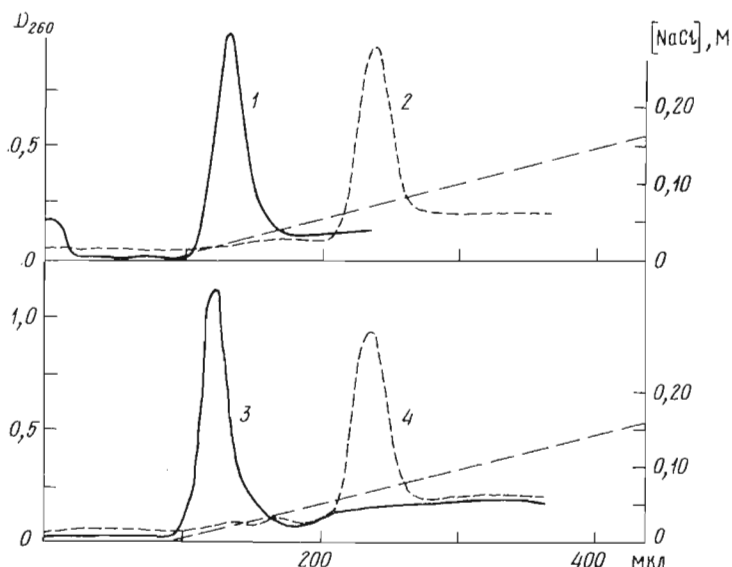


Рис. 2. Микроколоночная хроматография динуклеозидмонофосфатов на DEAE-целлюлозе в градиенте концентрации NaCl в 7 М мочевины (колонка 0,8×60 мм, скорость элюции 300 мкл/ч, запись на МСФП-1): аденилил(3'-5')-2'-дезоксисуридина (1), цитидилил(3'-5')-5-(α -оксигексафторизопропил)-2'-дезоксисуридина (2), аденилил(3'-5')-5-триметилсилил-2'-дезоксисуридина (3), аденилил(3'-5')-5-(α -оксигексафторизопропил)-2'-дезоксисуридина (4)

дезоксисуридин и цитидилил(3'-5')-5-(α -оксигексафторизопропил)-2'-дезоксисуридин элюировались с DEAE-целлюлозы при концентрации NaCl 0,08 М (рис. 2), что соответствует соединениям, имеющим два отрицательных заряда, в отличие от природных динуклеозидмонофосфатов, имеющих только один заряд, локализованный на межнуклеотидном фосфатном остатке. Микрохроматография в тех же условиях 5-(α -оксигексафторизопропил)-2'-дезоксисуридина и его 5'-фосфата (рис. 3) показала, что этот нуклеозид в отличие от природных нуклеозидов элюируется с колонки при концентрации NaCl 0,02–0,04 М, т. е. как соединение, имеющее один заряд, а его 5'-фосфат — при концентрации 0,1–0,12 М, т. е. как соединение, несущее три отрицательных заряда. Эти данные свидетельствуют о том, что «дополнительный» заряд во всех производных 5-(α -оксигексафторизопропил)урацила локализован в гетероциклическом основании и, по-видимому, обусловлен диссоциацией гидроксила в α -оксигексафторизопронильном остатке, находящегося под влиянием шести атомов фтора. Действительно, 5-перфторизопропил-2'-дезоксисуридин при микроколоночной хроматографии ведет себя как природный нуклеозид (рис. 3).

Таблица 3

Характеристики динуклеозидмонофосфатов, содержащих 5-замещенные 2'-дезоксисуридины

Динуклеозидмонофосфат	R_f^* в системе А	$U_{отн}^*$	УФ-спектр в H ₂ O					
			$\lambda_{\text{макс}}$	$\lambda_{\text{мин}}$	$\epsilon_{250}/\epsilon_{260}$	$\epsilon_{270}/\epsilon_{260}$	$\epsilon_{280}/\epsilon_{260}$	$\epsilon_{220}/\epsilon_{260}$
ArU _d	1,47	0,72	262	231	0,76	0,78	0,26	0,06
ArT _d	1,46	0,72	262	234	0,75	0,86	0,41	0,15
ArI ⁵ U _d	1,67	0,89	262	235	0,80	0,85	0,44	0,18
ArN	2,30	0,90	263	238	0,70	0,91	0,54	0,21
ArN'	2,10	0,70	262	234	0,73	0,84	0,42	0,11
CpN	4,6**	—	269	244	0,81	1,05	0,78	0,33
CpN'	2,0	0,67	269	242	0,82	1,09	0,82	0,39

* Определены относительно 5'-концевого нуклеотида (Ar или Cp соответственно).

** Система Б.

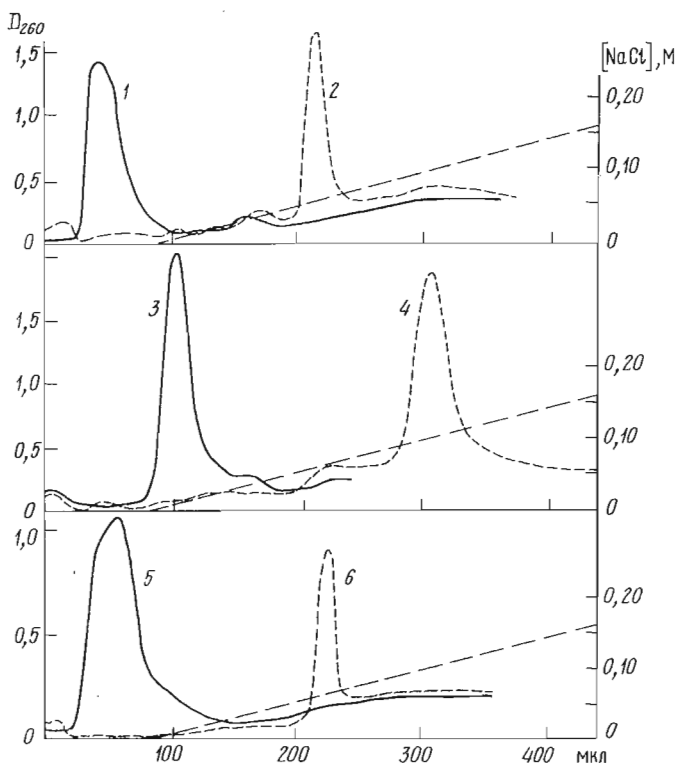


Рис. 3. Микроколоночная хроматография продуктов гидролиза полученных динуклеозидмонофосфатов на DEAE-целлюлозе в градиенте концентрации NaCl в 7 М мочеви-не (колонокка 0,8×60 мм, скорость элюции 300 мкл/ч, запись на МСФП-1): 5-триметил-силлил-2'-дезоксисуридина (1), 5'-фосфата 5-триметилсиллил-2'-дезоксисуридина (2), 5-(α -оксигексафторизопротил)-2'-дезоксисуридина (3), 5'-фосфата 5-(α -оксигексафторизопротил)-2'-дезоксисуридина (4), 5-перфторизопротил-2'-дезоксисуридина (5), 5'-фосфата 2'-дезоксисуридина (6)

Структуру вновь синтезированных динуклеозидмонофосфатов подтверждали ферментативным гидролизом и анализом гидролизата с помощью хроматографии и электрофореза на бумаге и УФ-спектрофотометрии (табл. 4). Для расщепления использовали малоспецифичную рибонуклеазу *Pen. brevicompactum* и фосфодиэстеразу змеиного яда *Crotalus adamantous*. Динуклеозидмонофосфаты, содержащие 5-(α -оксигексафторизопротил)-2'-дезоксисуридин и 5-триметилсиллил-2'-дезоксисуридин, расщепляются этими ферментами с образованием обычных продуктов, но скорость их расщепления фосфодиэстеразой змеиного яда существенно меньше, чем для природного динуклеозидмонофосфата. В гидролизатах были найдены соответственно аденозин- или цитидин-3'-фосфат и 5-замещенный 2'-дезоксисуридин (рибонуклеаза) или аденозин (соответственно цитидин) и фосфорилированный 5-замещенный 2'-дезоксисуридин (фосфодиэстераза), что подтверждает наличие в обрабатываемых ферментами соединениях фосфодиэфирной связи. Продукты расщепления идентифицировали по их поведению при хроматографии и электрофорезе на бумаге и УФ-спектрам (см. табл. 4). В случае фосфорилированных производных соединений (1г, д) наличие фосфатной группы подтверждается также результатами микрохроматографии этих производных на DEAE-целлюлозе (рис. 3), а ее локализация в 5'-положении определяется способом действия фосфодиэстеразы змеиного яда.

Экспериментальная часть

В работе использовали натриевые соли 2',3'-циклофосфатов аденозина и цитидина, панкреатическую рибонуклеазу (КФ 3.1.27.5, Reanal, Венгрия), 2'-дезоксисуридин (Calbiochem, США), 2'-дезокситимидин (Fluka.

Ферментативный гидролиз динуклеозидмонофосфатов, содержащих
5-замещенные 2'-дезоксинуридины

Динуклеозид- монофосфат	Фермент	Характеристики продуктов гидролиза			
		Продукты (соотношение)	R_f в системе Б*	$\lambda_{\text{макс}}$	$\lambda_{\text{мин}}$
ApU _a	Рибонуклеаза 2*	Ap, U _a (1 : 1)	1,0 4,0	257 262	230 230
ApT _a	»	Ap, T _a (1 : 1)	1,0 5,3	257 267	230 238
ApI ⁵ U _a	»	Ap, I ⁵ U _a (1 : 1)	1,0 3,6	257 268	231 238
ApN	»	Ap, N (1 : 1,3)	1,0 8,4	258 268	232 238
ApN	Фосфодиэстераза 2*	A, pN	0,4 3* 1,1 3*	259 266	231 235
ApN'	Рибонуклеаза	Ap, N' (1 : 1,3)	1,0 4* 2,6 4*	258 267	230 236
ApN'	Фосфодиэстераза	A, pN'	0,6 3* 1,0 3*	259 267	228 236
CpN	Рибонуклеаза	Cp, N (1 : 1)	1,0 6,2	270 268	249 238
CpN	Фосфодиэстераза	C, pN (1 : 1)	0,4 3* 1,1 3*	280 5* 266	243 242
CpN'	Рибонуклеаза	Cp, N' (1 : 1)	1,0 2,2	272 267	252 236

1* Определены относительно 5'-нуклеотида.

2* Рибонуклеаза *Pen. brevicompactum*, фосфодиэстераза *Crotalus adamantous*.

3* Приведены $U_{\text{отн}}$, определенные относительно 5'-нуклеотида.

4* Определены в системе А.

5* В 0,1 н. HCl.

Швейцария), 5-фтор-2'-дезоксинуридин (Serva, ФРГ), фосфодиэстеразу змеиного яда *C. adamantous* (КФ 3.1.4.1, Koch-Light, Англия).

Малоспецифичная рибонуклеаза *Pen. brevicompactum* (КФ 3.1.4.23) выделена В. А. Ежовым и сотр. (ИБФМ АН СССР). СМ-рибонуклеаза *Pen. brevicompactum* приготовлена как описано в работе [18]. За единицу активности принимали количество фермента, расщепляющее при 37° С 1 мкмоль С>р за 1 мин при рН 5,2 (рибонуклеаза *Pen. brevicompactum*) или А>р за 1 мин при рН 7,0 (СМ-рибонуклеаза *Pen. brevicompactum*).

Синтез аномерных 5-замещенных 2'-дезоксинуридинов описан в работах [5-7].

Хроматографию и электрофорез проводили на бумаге FN-1 и FN-5 (Filtrak, ГДР). Для нисходящей хроматографии использовали следующие системы растворителей: этанол - пропанол-2 - конц. аммиак - вода, 65 : 5 : 10 : 20 (А), пропанол-2 - конц. аммиак - вода, 7 : 1 : 2 (Б). Вертикальный электрофорез проводили в течение 2 ч при напряжении 20 В/см в 0,05 М ТЕАВ, рН 8,0.

Микроколоночную хроматографию проводили на DEAE-целлюлозе в градиенте концентрации NaCl в 7 М мочевины на колонке размером 0,8×60 мм (скорость элюции 300 мкл/ч; запись на МФП-1 [16, 17]).

УФ-спектры снимали на спектрофотометре Spesord (ГДР) с автоматической записью, остальные спектрофотометрические измерения проводили на спектрофотометре СФ-26.

Синтез динуклеозидмонофосфатов, катализируемый рибонуклеазами. Раствор нуклеозид-2',3'-циклофосфата и нуклеозида в 0,2 М фосфатном буфере, рН 7,0 (рибонуклеаза *Pen. brevicompactum*, СМ-рибонуклеаза *Pen. brevicompactum*), или 0,05 М трис-HCl-буфере, рН 7,6 (панкреатическая рибонуклеаза), инкубировали с ферментом при ~0° С. Начальные концентрации субстратов и фермента, а также продолжительность инкубирования приведены в табл. 1, 2. По истечении указанного времени (соответствует максимальному выходу и установлено по результатам изучения

зависимости выхода динуклеозидмонофосфата от времени) реакционную смесь наносили на бумагу и разделяли, комбинируя электрофорез и хроматографию на бумаге: ArU_d , ArT_d , ArN' , CpN' выделяли, применяя сначала электрофорез, а затем хроматографируя в системе А; ArII^5U_d выделяли с помощью хроматографии в системе А, а ArN и CpN — с помощью хроматографии в системе Б. Характеристики синтезированных соединений приведены в табл. 3.

Гидролиз динуклеозидмонофосфатов. А. 5 ОЕ₂₆₀ динуклеозидмонофосфата растворяли в 0,05 мл 0,2 М ацетатного буфера, рН 5,2, содержащего рибонуклеазу *Pen. brevicompactum* (1 ед. акт./мл), и оставляли на ночь при 20° С.

Б. 5 ОЕ₂₆₀ динуклеозидмонофосфата растворяли в 0,1 мл 0,1 М трис-НСl-буфера, рН 9,4, содержащего 0,01 М MgCl_2 и фосфодиэстеразу змеиного яда *C. adamantous* (1 мг/мл), и инкубировали 16 ч при 37° С. В обоих случаях гидролизаты анализировали хроматографией на бумаге в системах А или Б и УФ-спектрофотометрией.

Авторы приносят благодарность сотруднику лаборатории физики ферментных систем ИБФ АН СССР В. М. Соболеву за квантовохимический расчет распределения электронной плотности для 5-замещенных производных урацила.

ЛИТЕРАТУРА

1. Prusoff W. H., Fischer P. H. In: Nucleoside analogues / Eds Walker R. T. et al. Plenum Press Publ. Co., 1979, p. 281–318.
2. Горренс Р. Ф., Де Клерк Э., Декамп И., Хуан Г. Ф., Виткол Б. В кн.: Итоги и перспективы развития биоорганической химии и молекулярной биологии. М.: Наука, 1978, с. 61–85.
3. De Clercq E. Meth. and Find. Exptl Clin. Pharmacol., 1980, v. 2, p. 253–267.
4. Галегов Г. А. В кн.: Перспективы биоорганической химии в создании новых лекарственных препаратов. Рига: Зинатне, 1982, с. 113.
5. Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Недорезова Т. П., Ворновицкая Г. И., Преображенская М. Н., Аветисян Э. А., Герман Л. С., Полищук В. Р., Чекунова Э. В., Бектемиров Т. А., Анджапаридзе О. Г. Биоорг. химия, 1981, т. 7, с. 1047–1053.
6. Melnik S. Y., Bakhmedova A. A., Miniker T. D., Preobrazhenskaya M. N., Zagulyaeva O. A., Mataev V. P. Nucleic Acids Res., Symposium Series, 1981, № 9, p. 53–55.
7. Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Ярцева И. В., Недорезова Т. П., Ворновицкая Г. И., Преображенская М. Н., Герман Л. С., Полищук В. Р., Аветисян Э. А. Биоорг. химия, 1981, т. 7, № 11, с. 1711–1717.
8. Масленникова Т. А., Седельникова Э. А., Клягина В. П., Женодарова С. М. Молекулярн. биология, 1973, т. 7, № 1, с. 36–41.
9. Женодарова С. М., Клягина В. П., Смолянинова О. А. Ж. общ. химии, 1974, т. 44, № 2, с. 446–451.
10. Guljaeva V. I., Holý A. Coll. Czech. Chem. Commun., 1979, v. 44, № 2, p. 613–625.
11. Женодарова С. М., Клягина В. П. Ж. общ. химии, 1970, т. 40, № 9, с. 2124–2127.
12. Женодарова С. М., Седельникова Э. А., Смолянинова О. А., Соболева И. А., Хабарова М. И. Биоорг. химия, 1977, т. 3, № 11, с. 1479–1483.
13. Минкин В. И., Симкин Б. Я., Миняев Р. М. В кн.: Теория строения молекул. М.: Высшая школа, 1979, с. 342–345.
14. Женодарова С. М., Голованов И. Б., Соболев В. М. Изв. АН СССР. Сер. хим., 1976, № 8, с. 1846–1850.
15. Сидорова Н. С. Исследование в области синтеза олиго- и полинуклеотидов. Автореф. дис.... д-ра хим. наук. Л.: ИВС АН СССР, 1975, с. 10.
16. Грачев М. А. В кн.: Ультрамикроанализ нуклеиновых кислот. М.: Наука, 1973, с. 104–122.
17. Генер Г. В кн.: Методы исследования нуклеиновых кислот. М.: Мир, 1970, с. 85–90.
18. Женодарова С. М., Соболева И. А., Хабарова М. И., Ежов В. А., Приходько А. Г. Биоорг. химия, 1980, т. 6, № 5, с. 736–742.

Поступила в редакцию
10.V.1983

5-SUBSTITUTED 2'-DEOXYURIDINES IN THE SYNTHESIS OF INTERNUCLEOTIDE BOND CATALYZED BY DIFFERENT RIBONUCLEASES

SOBOLEVA I. A., KHABAROVA M. I., ZHENODAROVA S. M.,
MELNIK S. Ya., PREOBRAZHENSKAYA M. N.

*Institute of Biological Physics, Academy of Sciences of the USSR, Pushchino;
All-Union Cancer Research Center, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow*

Anomeric 5-(α -oxyhexafluoroisopropyl)-2'-deoxyuridines, α -anomer of 5-perfluoroisopropyl-2'-deoxyuridine as well as 5'-trimethylsilyl-, 5-fluoro-2'-deoxyuridine, 2'-deoxythymidine and 2'-deoxyuridine were used as phosphate acceptors in the reaction of internucleotide bond formation catalyzed by nonspecific ribonuclease *Pen. brevicompactum* and pancreatic ribonuclease. Adenosine- and cytidine-2',3'-cyclic phosphates were utilized as donors of phosphate. Dinucleoside monophosphates were prepared for all the studies β -deoxynucleosides; the attempts to use α -anomers in the above reaction as phosphate acceptors were unsuccessful. Adenylyl(3'-5')-5-(α -oxyhexafluoroisopropyl)-2'-deoxyuridine, adenylyl(3'-5')-5-trimethylsilyl-2'-deoxyuridine, adenylyl(3'-5')-5-fluoro-2'-deoxyuridine, adenylyl(3'-5')-2'-deoxythymidine, adenylyl(3'-5')-2'-deoxyuridine, cytidylyl(3'-5')-5-(α -oxyhexafluoroisopropyl)-2'-deoxyuridine and cytidylyl(3'-5')-5-trimethylsilyl-2'-deoxyuridine were obtained in 3-10% yields. 5-substituted 2-deoxyuridines were found to be less active as phosphate acceptors than unmodified 2'-deoxyuridine.