

## ХИМИЯ И ТЕХНОЛОГИЯ ЛЕКАРСТВЕННЫХ ПРЕПАРАТОВ И БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ СОЕДИНЕНИЙ

УДК 577.113.3

СИНТЕЗ МОНОМЕРОВ  $\gamma$ -ЗАМЕЩЕННЫХ ПОЛИАМИДНЫХ МИМЕТИКОВ НУКЛЕИНОВЫХ КИСЛОТ

А.В. Деженков, аспирант, М.А. Льянов, инженер, Д.И. Прохоров,  
научный сотрудник, Н.Е. Лысенко, студент, О.В. Есипова, доцент,  
Ю.Г. Кириллова, доцент

кафедра Биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ им. М.В. Ломоносова

e-mail: [pna-mithi@yandex.ru](mailto:pna-mithi@yandex.ru)

**П**редставлен универсальный эффективный препаративный способ получения мономеров  $\gamma$ -замещенных полиамидных ДНК-миметиков на основе производных L-аланина и глицина. В результате исследования были синтезированы цитозин- и аденинсодержащие целевые мономеры и показана возможность использования в их синтезе как аллильной, так и метильной C-терминальных защитных групп на примере цитозинсодержащих производных.

*Universal efficient preparative approach for obtaining of  $\gamma$ -substituted polyamide DNA-mimics on the base of L-alanine and L-glycine derivatives was presented. As result of research cytosine and adenine-containing final monomers were synthesised. It was found that both allyl and methyl C-terminal protecting group can be used in the synthesis as example of cytosine-containing derivatives.*

**Ключевые слова:** пептидно-нуклеиновые кислоты (ПНК),  $\gamma$ -замещённые полиамидные миметики, псевдопептиды, реакция Мицунобу.

**Key words:** peptide nucleic acids (PNA),  $\gamma$ -substitued polyamides mimetics, pseudopeptides, Mitsunobu reaction.

Полиамидные миметики нуклеиновых кислот (ПАНКМ), более известные как пептидно-нуклеиновые кислоты (аег-ПНК) [1], нашли широкое применение в различных областях физико-химической биологии. В частности, на основе ПАНКМ/аег-ПНК предложены и реализованы технологии биосенсеров и микрочипов, системы для селективного расщепления нуклеиновых кислот, определения генетических мутаций и др. [2–4].

В работе Ли с сотр. [5] продемонстрированы интересные свойства хиральных ПАНКМ, содержащих метильный заместитель в  $\gamma$ -положении, на основе L-аланина. Эти миметики нуклеиновых кислот образуют в растворе правозакрученные спирали (по данным КД- и ЯМР-спектроскопии) и способны к более прочному и селективному связыванию с комплементарными участками нуклеиновых кислот по сравнению с  $\alpha$ -ПАНКМ и классическими незаряженными ахиральными аег-ПНК. Еще одно интересное свойство  $\gamma$ -замещенных ПАНКМ – это способность к вытеснению из дуплекса ДНК одной из цепей при действии одноцепочечной  $\gamma$ -ПАНКМ. Эти свойства представляют интерес из-за возможного потенциального использования этих веществ ( $\gamma$ -ПАНКМ) в качестве молекулярных инструментов в ДНК-диагностике, геномике и биотехнологии. В этой связи актуальной является разработка универсальных технологичных методов синтеза хиральных  $\gamma$ -замещенных ПАНКМ на основе L-аланина. С одной стороны, эти методы синтеза должны обеспечивать высокую эффективность и региоселективность процессов, с другой стороны, стратегия и тактика применяемых временных и постоянных защитных групп, а также выбранные методы конденсации должны обес-

печивать отсутствие рацемизации в процессе синтеза.

В проведенных ранее работах было показано преимущество реакции Мицунобу перед реакцией восстановительного N-алкилирования при создании псевдопептидного фрагмента [6, 7]. Также предложенные ранее синтезы предполагали последовательную конденсацию псевдопептидов с карбоксиметилированным производным гетероциклов. Другой более общий и универсальный способ представлен на схеме. Ключевой стадией является региоселективное алкилирование защищенного гетероцикла бромацильными производными **8**, **9**. Этот подход был ранее реализован нами при получении цитозинового мономера, содержащего бензилзащищенный карбоксиэтильный заместитель в  $\alpha$ -положении [8]. Таким образом, одна из задач исследования состояла в синтезе мономеров  $\gamma$ -ПАНКМ на основе L-аланина через универсальный путь алкилирования защищенных гетероциклических оснований бромацильным производными **8**, **9** (схема).

Для синтеза ахиральных аег-ПАНКМ обычно используют метильную или этильную защитные группы на C-конце, удаляемые в щелочных условиях [9]. В случае  $\alpha$ -хиральных ПАНКМ применение таких защитных групп ограничено, поскольку возможна рацемизация в условиях их удаления. Для синтеза хиральных  $\gamma$ -ПАНКМ, за исключением специальных случаев [10], метильная защитная группа нашла свое применение, но до сих пор в литературе нет экспериментального подтверждения, что основные условия удаления этой группы не влияют на оптическую частоту продуктов гидролиза целевых мономеров  $\gamma$ -ПАНКМ.

Поэтому мы осуществили получение цитозинсодержащего мономера **13** хиральных  $\gamma$ -метилполиамидных миметиков нуклеиновых кислот с использованием как аллильной [11],

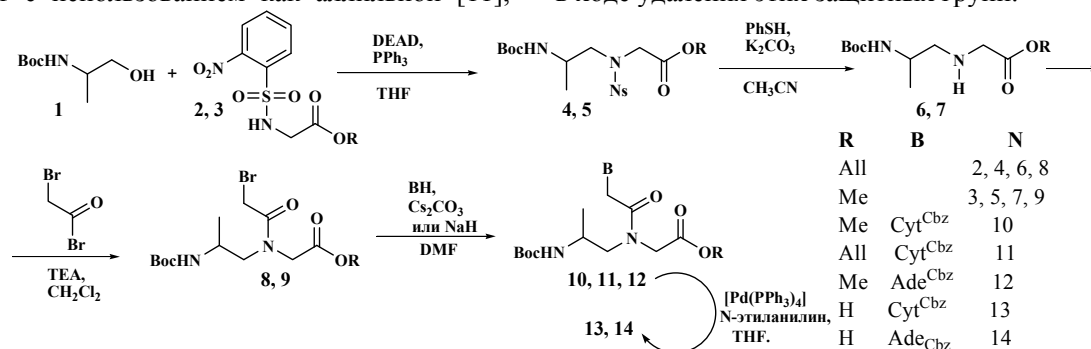


Схема.

Ключевыми интермедиатами в синтезе  $\gamma$ -метилсодержащего мономера ПАНКМ являются *ortho*-NBS-защищенные псевдопептиды **4, 5**, которые были получены конденсацией по Мицунобу аминспирта **1** и соответствующих *ortho*-NBS-производных аминокислот **2, 3** с выходами 80 и 78% соответственно. Для удаления *ortho*-нитробензолсульфонильной использовали 5-ти-кратный избыток тиофенола и 2-х-кратный избыток  $K_2CO_3$  в ацетонитриле. Реакция протекала в течение 15 ч. Свободные псевдопептиды **6, 7** вводили в реакцию ацилирования с бромацетилбромидом в присутствии ТЕА. Бромацильные производные **8, 9** выделяли с помощью колоночной хроматографии, выходы составили 85 и 73% соответственно. Алкилирование Cbz-защищенного цитозина [12] бромацильными производными **8, 9** проводили в ДМФА с использованием карбоната цезия. В реакции алкилирования Cbz-защищенного аденина бромацильным производным **9** использовали гидрид натрия. Полностью защищенные производные мономеров **10, 11** и **12** были очищены с применением колоночной хроматографии, выходы составили 64, 50 и 67% соответственно. Структуры полностью защищенных цитозин- (**10, 11**) и аденинсодержащих (**12**) мономеров подтверждали данными  $^1H$ -ЯМР-спектроскопии.

Метильную защитную группу в соединениях **10, 12** удаляли в щелочных условиях в смеси EtOH/ $H_2O$  (1:2, 30 мл), содержащей 1 мл концентрированного 2 М NaOH. Целевые мономеры **13, 14** выделяли с помощью колоночной хроматографии. Удаление аллильной защиты с карбоксильной группы в соединении **11** проводили в мягких и нейтральных условиях с помощью палладиевого катализатора – тетраakis(трифенилфосфин)палладия  $[Pd(PPh_3)_4]$  [13]. Реакцию проводили в тетрагидрофуране в атмосфере инертного газа при комнатной температуре. В присутствии  $[Pd(PPh_3)_4]$  аллильный остаток с эфиров переносится на *N*-этиланилин

так и метильной защитных групп на С-конце, для последующего сравнения величин углов оптического вращения продуктов, полученных в ходе удаления этих защитных групп.

в течение 30 мин, о чем свидетельствовали данные ТСХ. Мономер **13** был также выделен с помощью колоночной хроматографии.

Соединения **13, 14** были охарактеризованы методом  $^1H$ -ЯМР-спектроскопии, а также для образцов мономера **13** были определены углы оптического вращения. Последние оказались одинаковыми в случае использования обоих методов удаления С-концевых защитных групп -OMe и -OAll и равны  $\alpha_D^{20} = 4^\circ$ .

Таким образом, реализован универсальный путь синтеза мономеров  $\gamma$ -ПАНКМ и получены  $\gamma$ -метилсодержащие цитозиновый и адениновый мономеры. Также на основе этих экспериментальных данных можно с уверенностью утверждать, что использование метильной защитной группы в ходе синтеза мономеров  $\gamma$ -ПАНКМ не влияет на оптическую чистоту целевых продуктов. Ее использование является более предпочтительным, чем аллильной защиты, вследствие ее более низкой стоимости и меньшего количества стадий, необходимых для блокировки карбоксильной группы.

#### Экспериментальная часть

В работе использовались следующие реактивы и растворители: тиофенол, триэтиламин, *N*-этиланилин, бромацетилбромид, тетраakis(трифенилфосфин)палладий (Acros, Бельгия); диэтилазодикарбоксилат (40% раствор в толуоле) (TCI, США);  $PPh_3$  (Merck, Германия). Остальные реактивы и растворители марки х.ч. и ч.д.а. отечественного производства. Следующие растворители были очищены перед использованием: тетрагидрофуран (дважды перегоняли над KOH и непосредственно перед реакциями над  $LiAlH_4$ ), ацетонитрил, хлористый метилен, ДМФА (перегоняли над фталиевым ангидридом в вакууме).

Спектры  $^1H$ -ЯМР полученных соединений регистрировали при 25°C на импульсном Фурье-спектрометре Bruker MSL-200 (Германия) с рабочей частотой 200 МГц и Bruker MSL-400 (Германия) с рабочей частотой 400 МГц в

$\text{CDCl}_3$  и  $\text{DMSO}-d_6$ . Константа спин-спинового взаимодействия ( $J$ ) приведена в Гц.

Углы оптического вращения измеряли на поляриметре Optical activity limited AA-55 series polarimetr.

Протекание реакций контролировали с помощью ТСХ на пластинках Silica gel 60 F<sub>254</sub> (Merck, Германия). Вещества на пластинках обнаруживали в УФ-свете (254 нм), опрыскиванием 0.5% раствором нингидрина в этаноле с последующим нагреванием, насыщенным раствором перманганата калия с последующей отмывкой в воде.

Колоночную хроматографию при атмосферном давлении проводили на сорбенте Silica gel 60 (0.040-0.063 мм) (Merck, Германия).

Растворители удаляли на ротационном вакуумном испарителе (20 мм рт. ст.). Вещества сушили в высоком вакууме масляного насоса (0.5 мм рт. ст.).

**$\alpha$ -Аллиловый эфир  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминопропил]- $N$ -(*орто*-нитробензолсульфонил)-глицина (4).** К охлажденному до 0°C раствору 1.28 г (4.28 ммоль)  $\alpha$ -аллилового эфира  $N$ -(*орто*-нитробензолсульфонил)глицина (2), 0.50 г (4.28 ммоль)  $N$ -(*трет*-бутилоксикарбонил)изопропаноламина (1), 1.12 г (2.85 ммоль) трифенилфосфина в 70 мл ТГФ по каплям, в атмосфере инертного газа добавляли 0.75 г (4.28 ммоль, 1.20 мл) DEAD (40% раствор в толуоле) в течение 3 мин. Через 1 ч реакцию массу нагревали до комнатной температуры и перемешивали в течение 12 ч в отсутствие газа. Растворитель удаляли, полученное масло сушили в вакууме масляного насоса, растворяли в смеси 20 мл абсолютного диэтилового эфира и 7 мл гексана и выдерживали 12 ч при 4°C. Трифенилфосфиноксид отфильтровывали. Продукт выделяли с помощью колоночной хроматографии в системе гексан-этилацетат, 1:1 и сушили в вакууме масляного насоса. Выход: 1.35 г (69%).  $R_f$  0.42 (гексан – этилацетат, 1:1).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 8.10 (1H, m, аром.); 7.9 (1H, m, аром.); 7.71 (2H, m, аром.); 6.10 (1H, t,  $\text{HN-SO}_2$ ); 5.8 (1H, m,  $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ); 5.21 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ); 4.5 (2H, q,  $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ); 4.11 (2H, q,  $\text{NH-CH}_2$ -); 1.41 (9H, s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ); 1.19 (3H, d,  $\text{CH}_3$ ).

**$\alpha$ -Метилловый эфир  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминопропил]- $N$ -(*орто*-нитробензолсульфонил)-глицина (5)** получали аналогично соединению (4) исходя из 18.2 г (85.65 ммоль)  $\alpha$ -метилового эфира  $N$ -(*орто*-нитробензолсульфонил)-глицина (3), 10 г (57.10 ммоль)  $N$ -(*трет*-бутилоксикарбонил)изопропаноламина (1), 22.2 г (85.65 ммоль) трифенилфосфина и 39 мл (85.65 ммоль) DEAD (40% раствор в толуоле) в 250 мл ТГФ. Выход: 27 г (85%).  $R_f$  0.6 (гексан-этилацетат, 1:1).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м. д.): 7.1 (4H, m, *o*-NBS-); 4.6

(1H, s,  $\text{NHoc}$ ); 4.2 (2H, m,  $\alpha\text{-CH}_2$ ); 3.8 (1H, s,  $\gamma\text{-CH-}$ ); 3.55 (3H, d,  $-\text{OCH}_3$ ); 3.35 (2H, m,  $\beta\text{-CH}_2$ ); 1.35 (9H, d,  $\text{oc}$ ); 1.05 (3H, m,  $\text{CH}_3$ ).

**$\alpha$ -Аллиловый эфир  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)аминопропил]-глицина (6).** К раствору 0.5 г (1.09 ммоль)  $\alpha$ -аллилового эфира  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминопропил]- $N$ -(*орто*-нитробензолсульфонил) глицина (4) в 10 мл ацетонитрила при интенсивном перемешивании и охлаждении до 0°C добавляли 0.23 г (1.641 ммоль) карбоната калия и 0.45 г (4.06 ммоль, 416 мкл) тиофенола. Через 15 мин охлаждение убирали и перемешивали 5 ч при комнатной температуре. Растворитель удаляли, остаток растворяли в 10 мл диэтилового эфира и промывали 20% раствором лимонной кислоты (5×5 мл). Водный слой промывали диэтиловым эфиром (1×15 мл), доводили pH до 7.0 добавлением твердого карбоната калия и экстрагировали хлористым метиленом (4×10 мл). Органическую фазу сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , растворитель удаляли. Полученное масло хроматографировали на колонке (25×350 мм) в системе гексан – этилацетат, 4:6. Растворитель удаляли, масло сушили в вакууме масляного насоса. Выход: 164 мг (55%).  $R_f$  0.69 (гексан – этилацетат, 4:6).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 5.91 (1H, m,  $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ); 5.31 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ); 4.62 (2H, q,  $\text{CH}_2\text{-CH=CH}_2$ ); 3.47 (2H, q,  $\text{NH-CH}_2$ -); 2.61 (2H, d,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ); 1.47 (9H, s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ); 1.12 (3H, d,  $\text{CH}_3$ ).

**$\alpha$ -Метилловый эфир  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминопропил]-глицина (7)** получали аналогично из 3.5 г (9.4 ммоль)  $\alpha$ -метилового эфира  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминопропил]- $N$ -(*орто*-нитробензолсульфонил)-глицина (5), 1.9 г (13.7 ммоль) карбоната калия и 3.8 г (3.6 мл, 34.50 ммоль) тиофенола в 100 мл ацетонитрила. Выход: 1.08 г (53%).  $R_f$  0.70 (гексан – этилацетат, 4:6).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 4.75 (1H, s,  $\text{NHoc}$ ); 3.77 (1H, t,  $\gamma\text{-CH-}$ ); 3.77 (3H, t,  $-\text{OCH}_3$ ); 3.42 (2H, m,  $\alpha\text{-CH}_2$ ); 2.65 (2H, m,  $\beta\text{-CH}_2$ ); 1.88 (1H, d,  $-\text{NH-}$ ); 1.46 (9H, s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ); 1.15 (3H, m,  $\text{CH}_3$ ).

**$\alpha$ -Аллиловый эфир  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминопропил]- $N$ -бромацетилглицина (8).** К раствору 1.61 г (6.59 ммоль)  $\alpha$ -аллилового эфира  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминопропил]-глицина (6) в 45 мл хлористого метилена добавили 1.25 мл (7.1 ммоль) триэтиламина. Через 10 мин к смеси добавили 1.45 г (7.1 ммоль) бромацетилбромида. Через 4 ч растворитель удаляли, полученную смесь растворяли в 100 мл этилацетата и последовательно промывали водой (2×40 мл), раствором лимонной кислоты (2×20 мл), концентрированным раствором  $\text{KHCO}_3$  (2×20 мл) и рассолом (2×20 мл). Органическую фазу сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , растворитель удаляли, а продукт хроматографировали и сушили в вакууме масляного насоса. Выход 1.70 г (73%).  $R_f$  0.41

(гексан – этилацетат, 4:6).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 5.9 (1H, m,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 5.3 (2H, m,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 4.7 (9H, s,  $\text{BocNH}$ ); 4.3, 3.86 (2H, d,  $\alpha\text{-CH}_2$ ); 4.3, 3.81 (2H, d,  $\beta\text{-CH}_2$ ); 3.5 (1H, m,  $\gamma\text{-CH}$ ); 1.3 (9H, s,  $\text{Boc}$ ); 1.5 (3H, d,  $\gamma\text{-CH-CH}_3$ ).

**$\alpha$ -Метилловый эфир  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминоизопропил]- $N$ -бромацетилглицина (9)** получали аналогично соединению (8) из 1.18 г  $\alpha$ -метилового эфира  $N$ -[(*трет*-бутил-оксикарбонил)-аминоизопропил]-глицина (7), 0.73 мл триэтиламина, 1.18 г бромацетилбромида в 45 мл хлористого метилена. Выход 1.42 г (85%).  $R_f$  0.54 (гексан – этилацетат, 3:7).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 4.3, 3.86 (2H, d,  $\alpha\text{-CH}_2$ ); 4.3, 3.81 (2H, d,  $\beta\text{-CH}_2$ ); 3.8 (3H, m,  $-\text{OCH}_3$ ); 3.5 (1H, m,  $\gamma\text{-CH}$ ); 1.3 (9H, s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ); 1.5 (3H, d,  $\gamma\text{-CH-CH}_3$ ).

**$\alpha$ -Метилловый эфир  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминоизопропил]- $N$ -[( $\text{N}^4$ -бензилоксикарбонил)-цитозин-1-илацетат]-глицина (10)**. К раствору 1.007 г (4.1 ммоль)  $\text{N}^4$ -бензилоксикарбонилцитозина в 25 мл ДМФА добавляли 1.057 г (5.5 ммоль)  $\text{Cs}_2\text{CO}_3$ . Через 15 мин к суспензии добавляли раствор 1 г (2.74 ммоль)  $\alpha$ -метилового эфира  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминоизопропил]- $N$ -бромацетилглицина (9) в ДМФА. Через 24 ч растворитель упаривали, полученное масло растворяли в 50 мл этилацетата и промывали водой (2 $\times$ 20 мл) и рассолом (2 $\times$ 10 мл). Органическую фазу сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , растворитель удаляли. Продукт выделяли с помощью колоночной хроматографии и сушили в вакууме масляного насоса. Выход 980 мг (64%).  $R_f$  0.70 (этилацетат). Т. пл. 98-101 $^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 7.7 (1H, t,  $\text{CytH}^6$ ); 7.3 (1H, t,  $\text{CytH}^5$ ); 4.7 (2H, s,  $\alpha\text{-CH}_2$ ); 3.8 (2H, m,  $\beta\text{-CH}_2$ ); 3.4 (1H, m,  $\gamma\text{-CH}$ ); 1.4 (9H, s,  $\text{Boc}$ ); 1.2 (3H, d,  $\gamma\text{-CH-CH}_3$ ).

$^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 7.7 (1H, t,  $\text{CytH}^6$ ); 7.3 (1H, t,  $\text{CytH}^5$ ); 5.9 (1H, m,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 4.7 (2H, m,  $-\text{CH}_2\text{CH}=\text{CH}_2$ ); 4.35 (2H, s,  $\alpha\text{-CH}_2$ ); 3.6 (2H, m,  $\beta\text{-CH}_2$ ); 3.4 (1H, m,  $\gamma\text{-CH}$ ); 1.4 (9H, s,  $\text{Boc}$ ); 1.3 (3H, d,  $\gamma\text{-CH-CH}_3$ ).

**$\alpha$ -Аллиловый эфир  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминоизопропил]- $N$ -[( $\text{N}^4$ -бензилоксикарбонил)-цитозин-1-илацетат]-глицина (11)** получали аналогично соединению (10) из 0.74 г (3.0 ммоль)  $\text{N}^4$ -бензилоксикарбонилцитозина, 1 г (2.55 ммоль)  $\alpha$ -аллилового эфира  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминоизопропил]- $N$ -бромацетилглицина (8) в 25 мл ДМФА. Выход: 0.75 г (52%).  $R_f$  0.5 (этилацетат – метанол, 9:1). Т. пл. 85-87 $^\circ\text{C}$ .

**$\alpha$ -Метилловый эфир  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминоизопропил]- $N$ -[( $\text{N}^4$ -бензилоксикарбонил)-аденин-9-илацетат]-глицина (12)**. Дисперсию 0.08 г (1.6 ммоль)  $\text{NaN}$  в минеральном масле промывали гексаном и добавляли раствор 0.5 г (1.1 ммоль)  $\text{N}^4$ -бензило-

оксикарбонил)-аденина в 10 мл ДМФА. Через 10 мин к смеси добавляли раствор 0.62 г (1.1 ммоль)  $\alpha$ -метилового эфира  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминоизопропил]- $N$ -бромацетилглицина в ДМФА. Через сутки растворитель удаляли, полученное масло растворяли в 15 мл этилацетата и промывали водой (2 $\times$ 5 мл) и насыщенным раствором  $\text{NaCl}$  (2 $\times$ 5 мл). Органическую фазу сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , растворитель удаляли. Продукт выделяли с помощью колоночной хроматографии и сушили в вакууме масляного насоса. Выход 0.78 г (74%).  $R_f$  0.47 (хлористый метилен – метанол, 9:1). Т. пл. 93-95 $^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 8.1 (1H, s,  $\text{AdeH}^2$ ); 7.9 (1H, s,  $\text{AdeH}^8$ ); 7.3 (5H, m,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 5.6 (1H, s,  $\text{NH}\text{Boc}$ ); 3.77 (1H, t,  $\gamma\text{-CH}$ ); 3.77 (3H, t,  $-\text{OCH}_3$ ); 3.42 (2H, m,  $\alpha\text{-CH}_2$ ); 2.65 (2H, m,  $\beta\text{-CH}_2$ ); 1.42 (9H, s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ); 1.2 (3H, m,  $\text{CH}_3$ ).

**$N$ -[(*трет*-Бутилоксикарбонил)-аминоизопропил]- $N$ -[( $\text{N}^4$ -бензилоксикарбонил)-цитозин-1-илацетат]-глицина (13)**

#### Метод А

0.50 г (0.94 ммоль)  $\alpha$ -метилового эфира  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминоизопропил]- $N$ -[( $\text{N}^4$ -бензилоксикарбонил)-цитозин-1-илацетат]-глицина (10) растворяли в 30 мл смеси  $\text{EtOH}/\text{H}_2\text{O}$  (1:2), содержащей 1 мл 2 М  $\text{NaOH}$ . После перемешивания в течение 2 ч раствор был отфильтрован и подкислен до pH 3 добавлением 4 М  $\text{HCl}$ . Продукт выделяли фильтрацией и очищали колоночной хроматографией и сушили в вакууме масляного насоса. Выход 0.24 г (49%).  $R_f$  0.83 (хлористый метилен – метанол, 9:1). Т. пл. > 250 $^\circ\text{C}$ .  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{DMSO-}d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 7.9 (1H, t,  $\text{CytH}^5$ ); 7.4 (5H, m,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 7.0 (1H, t,  $\text{CytH}^6$ ); 6.8 (1H, d,  $\text{BocNH}$ ); 5.2 (2H, s,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 4.8, 3.9 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 4.6, 3.9 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{CO}$ ); 3.0 (1H, m,  $\gamma\text{-CH}$ ); 1.35 (9H, s,  $\text{Boc}$ ); 1.0 (3H, m,  $\gamma\text{-CH-CH}_3$ ).  $\alpha_D^{20} = 4^\circ$ .

#### Метод Б

0.4 г (0.72 ммоль)  $\alpha$ -аллилового эфира  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминоизопропил]- $N$ -[( $\text{N}^4$ -бензилоксикарбонил)-цитозин-1-илацетат]-глицина (11) растворяли в 5 мл ТГФ в атмосфере инертного газа. Последовательно добавляли 0.4 мл  $N$ -этиланилина и 0.09 г (0.07 ммоль)  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$ . Реакционную смесь при перемешивании по каплям добавляли в гексан (70 мл). Осадок отфильтровывали с помощью насадки для обратного фильтрования. Продукт выделяли с помощью колоночной хроматографии и сушили в вакууме масляного насоса. Выход 0.27 г (70%).  $\alpha_D^{20} = 4^\circ$ .

**$N$ -[(*трет*-Бутилоксикарбонил)-аминоизопропил]- $N$ -[( $\text{N}^4$ -бензилоксикарбонил)-аденин-1-илацетат]-глицина (14)** получали аналогично соединению (13) по методу А из 500 мг  $\alpha$ -метилового эфира  $N$ -[(*трет*-бутилоксикарбо-

нил)-аминоизопропил]-*N*-[( $N^4$ -бензилоксикарбонил)-аденин-9-илацетат]-глицина. Выход: 240 мг (49%).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 8.6 (1H, s,  $\text{AdeH}^2$ ); 8.3 (1H, s,  $\text{AdeH}^8$ ); 7.4 (5H, m,  $\text{CH}_2\text{Ph}$ ); 6.7 (1H, s,  $\text{NHoc}$ ); 5.4 (1H, t,  $\gamma\text{-CH}$ ); 3.8 (2H, m,  $\alpha\text{-CH}_2$ ); 3.4 (2H, m,  $\beta\text{-CH}_2$ ); 1.42 (9H, s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ); 1.0 (3H, m,  $\text{CH}_3$ ).

*Работа выполнена при финансовой поддержке Федеральной целевой программы «Научные и научно-педагогические кадры инновационной России» на 2009-2013 годы (госконтракт № 14.740.11.0634) и Российского фонда фундаментальных исследований (грант 09-04-01026а).*

#### ЛИТЕРАТУРА:

1. Nielsen P.E., Egholm M., Berg R.H., Buchardt O. Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide // *Science*. 1991. V. 254. P. 1497-1500.
2. Ratilainen T., Holmén A., Tuite E., Haaima G., Christensen L., Nielsen P.E., Nordén B. Hybridization of peptide nucleic acid // *Biochemistry*. 1998. V. 37. P. 12331-12342.
3. Demers D.B., Curry E.T., Egholm M., Sozer A.C. Enhanced PCR amplification of VNTR locus D1S80 using peptide nucleic acid (PNA) // *Nucleic Acids Res.* 1995. V. 23. P. 3050-3055.
4. Corradini R., Sforza S., Tedeschi T., Totsingan F., Marchelli R. Peptide nucleic acids with a structurally biased backbone: effects of conformational constraints and stereochemistry // *Curr. Topics in Med. Chem.* 2007. V. 7. P. 681-694.
5. Rapireddy S., He G., Roy S., Armitage B.A., Ly D.H. Strand invasion of mixed-sequence B-DNA by acridine-linked,  $\gamma$ -Peptide Nucleic Acid ( $\gamma$ -PNA) // *J. Am. Chem. Soc.* 2007. V. 129. P. 15596-15600.
6. Boyarskaya N.P., Prokhorov D.I., Kirillova Yu.G., Zvonkova E.N., Shvets V.I. Synthesis of protected pseudopeptides from dicarboxylic amino acids by Mitsunobu condensation // *Tetrahedron Lett.* 2005. V. 46. № 43. P. 7359-7362.
7. Falkiewicz B, Kolodziejczyk A.S., Liberek B., Wisniewski K.: Synthesis of achiral and chiral peptide nucleic acid (PNA) monomers using Mitsunobu reaction // *Tetrahedron*. 2001. V. 57. P. 7909-7917.
8. Баранов А.В., Цвид Н.С., Лукьяненко В.И., Прохоров Д.И., Кириллова Ю.Г., Швец В.И. Исследование путей синтеза цитозинового мономера отрицательно заряженных пептидно-нуклеиновых кислот // *Вестник МИТХТ*. 2007. Т. 2. № 5. С. 28-32.
9. Ulman E., Peyman A., Breipohl G., Will D.W. PNA: Synthetic polyamide nucleic acids with unusual binding properties // *Angew. Chem. Int. Ed.* 1998. V. 37. P. 2796-2823.
- 10, Боярская Н.П., Кириллова Ю.Г., Стотланд Е.А., Прохоров Д.И., Звонкова Е.Н., Швец В.И. Синтез двух новых тиминсодержащих мономеров отрицательно заряженных ПНК // *Доклады Академии наук*. 2006. Т. 408. №. 1. С. 55-58.
11. Льянов М.А, Кириллова Ю.Г., Прохоров Д.И., Лютик А.И., Есипова О.В., Швец В.И. Синтез двух тиминсодержащих мономеров ПНК на основе *L*-аланина и глицина // *Вестник МИТХТ*. 2010. Т. 5. № 1. С. 104-108.
12. Dueholm K.L., Egholm M., Behrens C., Christensen L., Hansen H.F., Vulpius T., Petersen K.H., Berg R.H., Nielsen P.E., Buchardt O. Synthesis of Peptide Nucleic Acid monomers containing the four natural nucleobases: thymine, cytosine, adenine, and guanine and their oligomerization // *J. Org. Chem.* 1994. V. 59. P. 5767-5773.
13. Friedrich-Bochnitschek S., Waldmann H., Kunz H. Allyl esters as carboxy protecting groups in the synthesis of O-glycopeptides // *J. Org. Chem.* 1989. V. 54. P. 751-756.