

## СИНТЕЗ ДВУХ ТИМИНСОДЕРЖАЩИХ МОНОМЕРОВ ПНК НА ОСНОВЕ L-АЛАНИНА И ГЛИЦИНА

М.А. Льянов, аспирант, Ю.Г. Кириллова, доцент, Д.И. Прохоров, научный сотрудник, А.И. Люттик, старший научный сотрудник, О.В. Есипова, доцент,

В.И. Швеиц, заведующий кафедрой

кафедра Биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ М.В. Ломоносова

e-mail: pna-mitht@yandex.ru

**П**редставлен эффективный препаративный синтез двух тиминсодержащих мономеров полиамидных ДНК-миметиков на основе производных L-аланина и глицина. В результате исследования оптимизированы стадии введения аллильной защиты и конденсации тимин-1-илуксусной кислоты с псевдопептидным интермедиатом.

Effective preparative synthesis of two thymine containing monomers of polyamide DNA-mimics based on L-alanine and glycine is presented. The results of investigation are more effective steps for allyl ester protective group incorporation and coupling of thymine-1-yl acetic acid with pseudopeptide intermediate.

**Ключевые слова:** пептидно-нуклеиновые кислоты (ПНК), хиральные мономеры ПНК, псевдопептиды, реакция Мицунобу

**Key words:** peptide nucleic acids (PNA), chiral monomers of PNA, pseudopeptides, Mitsunobu reaction

В последнее время большой интерес представляет изучение аналогов и миметиков нуклеиновых кислот как потенциальных антиген- и антисенс-агентов [1]. Отдельное место в этих исследованиях занимают пептидно-нуклеиновые кислоты (ПНК, рис. 1Б), которые впервые были описаны группой ученых во главе с Нильсеном в 1991 г. [2]. По своей функции они являются миметиками ДНК (рис. 1А) с радикально отличной структурой, в которой сахаро-фосфатный остов заменен на полиамидную цепь, состоящую из повторяющихся единиц N-2-аминоэтилглицина (аег), ковалентно связанных с нуклеиновыми основаниями через карбоксиметильный линкер («классические» аег-ПНК). Остов «классических» ПНК является нейтральным, что позволяет им связываться с комплементарными полианионными ДНК без электростатических взаимодействий, которые всегда присутствуют в ДНК:ДНК-дуплексе. Проведенные исследования показали, что ПНК проявляют устойчивость к внутриклеточным

ферментам и обладают уникальными гибридизационными характеристиками [2]. Благодаря способности ПНК образовывать высокопрочные дуплексы, триплексы и квадруплексы с комплементарными последовательностями нуклеиновых кислот они нашли свое применение в технологии биосенсоров и микрочипов, систем для селективного расщепления нуклеиновых кислот, определения генетических мутаций [3].

Однако «классические» ПНК имеют ряд недостатков и не всегда удовлетворяют всем требованиям, которые предъявляются к современным ДНК-миметикам. Так, например, ПНК обладают ограниченной проникающей способностью и плохой растворимостью в воде, они не подвергаются действию ферментов, что препятствует их использованию *in vivo*.

Таким образом, остается востребованным поиск новых ДНК-миметиков, обладающих не только биологической и химической стабильностью, но и адекватным фармакокинетическим действием [4].

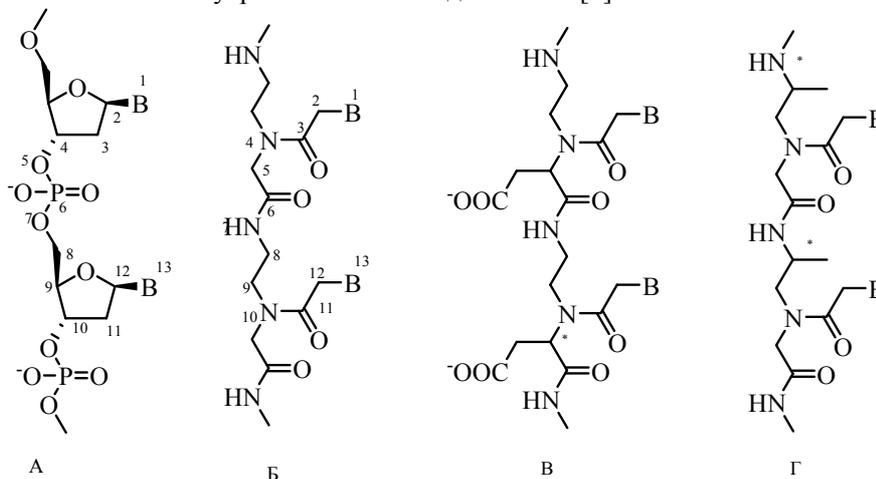


Рис. 1. Структура ДНК (А), «классических» (аег) (Б), отрицательно заряженных хиральных (В) и незаряженных хиральных (Г) ПНК.

В последние 10 лет на кафедре биотехнологии и бионанотехнологии МИТХТ им. М.В. Ломоносова проводится изучение различных модификаций ПНК, а именно отрицательно заряженных ПНК (ОЗПНК) (рис. 1В). К настоящему времени проведены исследования по разработке и оптимизации схемы синтеза, а также изучению их гибридизационных свойств. В частности, были синтезированы в препаративных количествах и полностью охарактеризованы четыре тиминсодержащих мономера отрицательно заряженных ПНК, а также два новых тиминсодержащих декамера отрицательно заряженных ПНК на основе *L*-глутаминовой кислоты и глицина [5–7]. При этом была продемонстрирована высокая аффинность ОЗПНК к природным комплементарным олигомерам ДНК, а также зависимость устойчивости полученных дуплексов ОЗПНК:ДНК от ионной силы раствора [8].

В настоящее время актуальным представляется исследование влияния количества и плотности заряда в псевдопептидном скелете на гибридизационные свойства олигомеров смешанного типа (рис. 1Г) при сохранении их регулярности, обусловленной наличием асимметрических центров с одинаковой конфигурацией в каждом мономере. Предполагается, что подобные олигомеры смешанного типа могут быть построены из хиральных заряженных (на основе глутаминовой кислоты) и хиральных незаряженных (на основе гидрофобных аминокислот) мономеров.

Таким образом, цель работы заключалась в оптимизации методов получения хиральных мономеров ПНК на основе *L*-аланина и разработке их в препаративных количествах, достаточных для проведения дальнейшей олигомеризации на твердой фазе.

За основу способа получения данных незаряженных хиральных мономеров была взята методика, разработанная ранее в нашей лаборатории для получения отрицательно заряженных мономеров на основе дикарбоновых аминокислот [5, 6, 9].

Ключевыми интермедиатами являются *орто*-нитробензолсульфонил-(*o*NBS-)защищенные псевдопептиды **8-9**, которые были получены конденсацией по Мицунобу аминокислот **2-3** и соответствующих *o*NBS-производных аминокислот **6-7** с выходами 72 и 93% (схема 1). Реакцию Мицунобу проводили в стандартных условиях с использованием диэтилазодикарбоксилата (DEAD) и трифенилфосфина (PPh<sub>3</sub>) в абсолютном тетрагидрофуране (THF) при 0°C в атмосфере инертного газа. С помощью тонкослойной хроматографии было установлено, что практически полная конверсия производных аминокислот происходит за 4-5 ч. Трифенилфосфиноксид, образующийся в ходе

реакции, кристаллизовали после удаления THF в безводном диэтиловом эфире выдерживанием в течение 12 ч при 4°C и отфильтровывали. *o*NBS-Замещенные псевдопептиды **8** и **9** выделяли с помощью колоночной хроматографии.

Спиртовая компонента **2** была синтезирована в три стадии из *L*-аланина (**1**). Для восстановления метилового эфира *N*-(трет-бутилоксикарбонил)-*L*-аланина использовали боргидрид натрия в присутствии безводного хлорида лития в атмосфере инертного газа [10]. Спиртовая компонента **3** была получена из этаноламина стандартным способом [11]. Производные аминокислот **6-7** были синтезированы в четыре стадии с выходами 89 и 62% соответственно [6].

Свободные псевдопептиды **10-11**, полученные после удаления *o*NBS-группы производных **8-9** мягким тиолизом с выходами 52 и 75% соответственно, вводили в реакцию ацилирования с тимин-1-ил-уксусной кислотой (**12**).

Конденсацию тимин-1-ил-уксусной кислоты с производными **10-11** проводили, используя два метода: смешанных ангидридов и карбодиимидный. В результате исследований, в качестве наиболее оптимального подхода к созданию амидной связи между псевдопептидными фрагментами и производным тимина нами был выбран карбодиимидный метод конденсации с использованием 1-[3-(диметиламино)пропил]-3-этилкарбодиимида гидрохлорида (EDC·HCl) как конденсирующего агента с нуклеофильной добавкой 3-гидроксо-4-оксо-3,4-дигидро-1,2,3-бензотриазином (DhbtOH). Активация карбоксильной группы проходила в течение 30 мин, после чего вводили вторичный амин. Реакция протекала в течение 5 ч при 40°C с полной конверсией. Производные **13** и **14** выделяли, используя колоночную хроматографию. Выходы на данной стадии были намного выше по сравнению с методом конденсации на основе смешанных ангидридов для соединения **14** (96 и 56% соответственно).

Удаление аллильной защиты с карбоксильной группы в соединениях **13** и **14** проводили в мягких нейтральных условиях с помощью палладиевого катализатора – тетраакис-(трифенилфосфин)палладия [Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>], применяемого в химии гликопептидов [12]. Реакцию проводили в тетрагидрофуране в атмосфере инертного газа при комнатной температуре. В присутствии 10 мол.% [Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>] аллильный остаток с эфира переносился на морфолин в течение 30 мин, о чем свидетельствовали данные ТСХ. После водной обработки мономеры **15** и **16** были выделены с помощью колоночной хроматографии. Протекание реакций контролировали методом ТСХ, структуру полученных соединений доказывали с помощью <sup>1</sup>H-ЯМР-спектров.

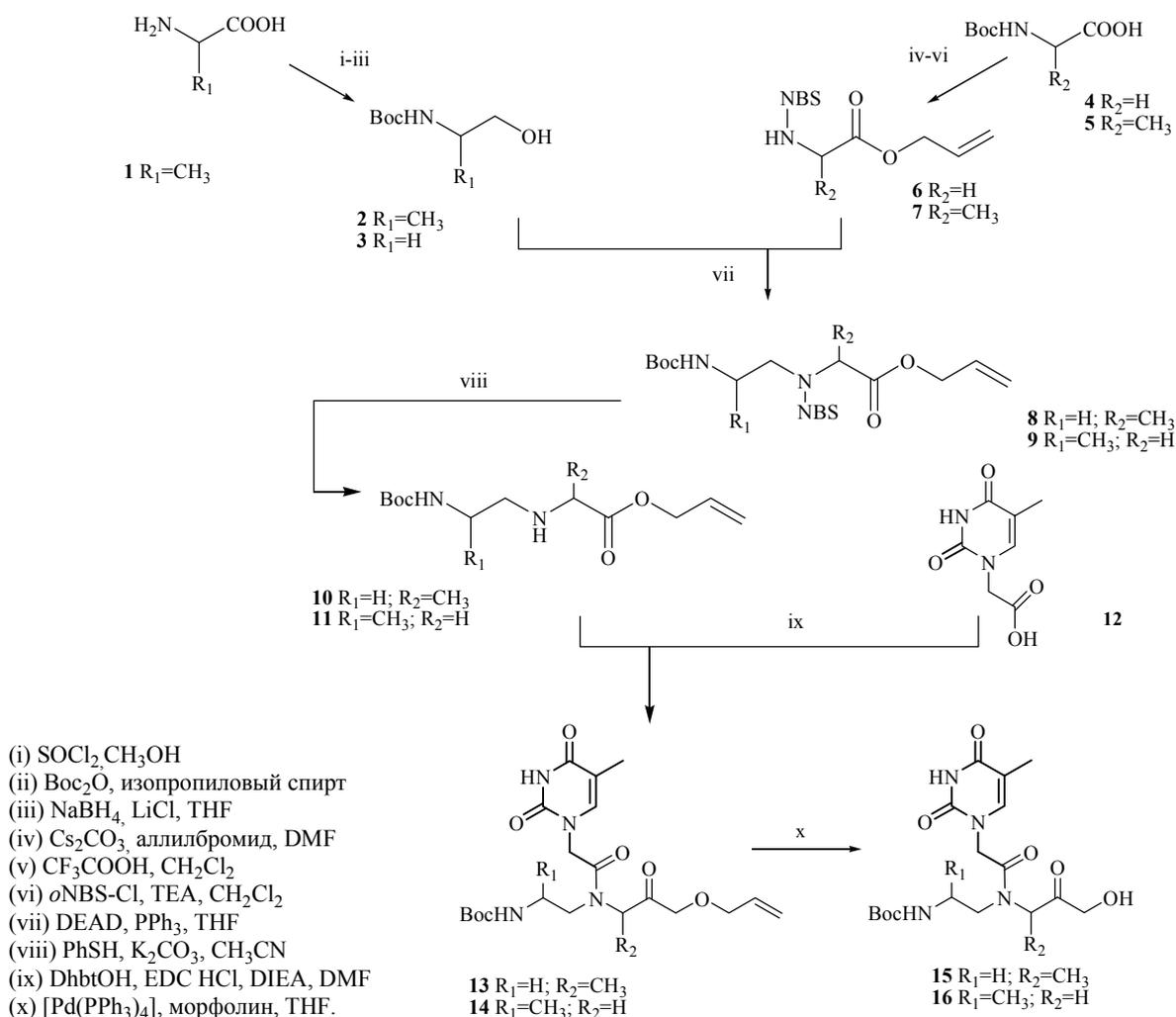


Схема 1.

Таким образом, в ходе работы разработана и оптимизирована стратегия синтеза хиральных незаряженных мономеров ПНК, синтезированы два тиминсодержащих незаряженных хиральных мономера на основе *L*-аланина и глицина.

#### Экспериментальная часть

В работе использовались следующие реактивы: диэтилазодикарбоксилат (40% раствор в толуоле) (TCI, США), аллилбромид, тионилхлорид, диизопропилэтиламин (DIEA) тетраakis(трифенилфосфин)палладий (ЗАО Мосреактив), *L*-аланин, трифенилфосфин (Merck, Германия), *орто*-нитробензолсульфонилхлорид (Fluka, Швейцария), 3-гидрокси-4-оксо-3,4-дигидро-1,2,3-бензотриазин (Aldrich, Германия), морфолин, 1-[3-(диметиламино)-пропил]-3-этилкарбодимид гидрохлорид (Acros, Бельгия). Остальные реактивы и растворители отечественного производства.

Следующие растворители были очищены перед использованием: метанол (абсолютизировали кипячением с магниевой стружкой и последующей перегонкой), диметилформамид (DMF) (перегоняли над фталиевым ангидридом в вакууме), этилацетат (перегоняли над  $\text{CaCl}_2$ ), тетрагидрофуран и диэтиловый эфир (дважды перегоняли над КОН и непосредственно перед

реакциями над  $\text{LiAlH}_4$ ), триэтиламин (перегоняли над КОН).

Спектры  $^1\text{H}$ -ЯМР полученных соединений регистрировали при  $25^\circ\text{C}$  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  $\text{DMSO}-d_6$ .

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 последующим отмыванием в воде.

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*-[3-(трет-бутилоксикарбонил)-аминоэтил]-*N*-(*орто*-нитробензолсульфонил)-*L*-аланина (8).** К охлажденному до  $0^\circ\text{C}$  раствору 4.0 г (12.62 ммоль)  $\alpha$ -аллилового эфира *N*-(*орто*-нитробензолсульфонил)-*L*-аланина (7), 1.35 г (8.40 ммоль) *N*-(трет-бутил-

оксикарбонил)-этанолamina (3) и 3.3 г (12.28 ммоль) трифенилфосфина в 70 мл THF в атмосфере инертного газа по каплям в течение 30 мин добавляли 2.2 г (12.60 ммоль, 5.75 мл) DEAD (40% раствор в толуоле). Через 1 ч реакционную массу перемешивали при комнатной температуре в отсутствие инертного газа в течение 12 ч. Растворитель удаляли, полученное масло сушили в вакууме масляного насоса, затем растворяли в 25 мл безводного диэтилового эфира и выдерживали 12 ч при 4°C. Выпавший трифенилфосфиноксид отфильтровывали, растворитель удаляли, остаток хроматографировали на колонке (20\*500 мм) в системе растворителей гексан – этилацетат, 1 : 1. Растворитель удаляли, продукт в виде масла сушили в вакууме масляного насоса. Выход: 5.38 г (93%).  $R_f$  0.43 (гексан–этилацетат 1 : 1).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 8.1 (1H, m, аром.), 7.71 (2H, m, аром.), 7.6 (1H, m, аром.), 5.79 (1H, m,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 5.3 (1H, t,  $\text{HN-SO}_2$ ), 5.21 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 4.51 (2H, q,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 4.17 (2H, q,  $\text{NH-CH}_2$ -), 1.41 (9H, s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.3 (3H, d,  $\text{CH}_3$ ).

**$\alpha$ -Аллиловый эфир *N*-[(*трет*-бутилоксикарбонил)-аминоизопропил]-*N*-(*орто*-нитробензолсульфонил)глицина (9)** получали аналогично соединению 8 исходя из 1.28 г (4.28 ммоль)  $\alpha$ -аллилового эфира *N*-(*орто*-нитробензолсульфонил)глицина (6), 0.50 г (2.85 ммоль) *N*-(*трет*-бутилоксикарбонил)изопропаноламина (2), 1.12 г (4.28 ммоль) трифенилфосфина в 70 мл THF и 0.75 г (4.28 ммоль, 1.20 мл) DEAD (40% раствор в толуоле). 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,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 5.21 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 4.5 (2H, q,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 4.11 (2H, q,  $\text{NH-CH}_2$ -), 1.41 (9H, s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.19 (3H, d,  $\text{CH}_3$ ).

**$\alpha$ -Аллиловый эфир *N*-[(*трет*-бутилоксикарбонил)аминоэтил]-*L*-аланина (10).** К раствору 2 г (4.37 ммоль) соединения 8 в 40 мл ацетонитрила при интенсивном перемешивании и охлаждении до 0°C добавляли 0.91 г (6.55 ммоль) карбоната калия и 1.79 г (16.27 ммоль, 1.66 мл) тиофенола. Через 15 мин охлаждение убирали и перемешивали 5 ч при комнатной температуре. Растворитель удаляли, остаток растворяли в 30 мл диэтилового эфира и промывали 20% раствором лимонной кислоты (5\*10 мл). Водный слой промывали диэтиловым эфиром (1\*15 мл), доводили до pH 7.0 добавлением твердого карбоната калия и экстрагировали хлористым метиленом (4\*20 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 высоком вакууме. Выход: 0.90 г (75%).  $R_f$  0.69 (гексан–этилацетат, 4 : 6).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 5.79 (1H, m,  $\text{CH}_2$ -

$\text{CH}=\text{CH}_2$ ), 5.21 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 4.52 (2H, q,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 3.8 (2H, q,  $\text{NH-CH}_2$ -), 1.45 (9H, s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.29 (3H, d,  $\text{CH}_3$ ).

**$\alpha$ -Аллиловый эфир *N*-[(*трет*-бутилоксикарбонил)аминоизопропил]глицина (11)** получали аналогично соединению 10 исходя из 500 мг (1.09 ммоль) соединения 9, 226.46 мг (1.641 ммоль) карбоната калия и 447.5 мг (4.06 ммоль, 416 мкл) тиофенола. 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,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 5.31 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 4.62 (2H, q,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 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,  $\text{CH}_3$ ).

**$\alpha$ -Аллиловый эфир *N*-(*трет*-бутилоксикарбонил)аминоэтил-*N*-(тимин-1-илацетил)-*L*-аланина (13).** К раствору 855 мг (4.62 ммоль) тимин-1-илуксусной кислоты (12) и 812 мг (4.97 ммоль) DhbtOH в 50 мл DMF при интенсивном перемешивании добавляли небольшими порциями 955 мг (4.97 ммоль) EDCNCl. Через 30 мин к смеси добавляли 900 мг (3.031 ммоль) соединения 10 и 1.044 мл (779 мг, 6.05 ммоль) DIEA. Реакцию оставляли перемешиваться при 40°C в течение 5 ч. Растворитель удаляли при пониженном давлении, а остаток растворяли в этилацетате (20 мл) и добавляли 10 мл воды. Водную фракцию экстрагировали этилацетатом (2\*5 мл). Органические слои объединяли и промывали 0.1 М  $\text{KHSO}_4$  (1\*20 мл), водой (2\*10 мл), насыщенным раствором NaCl (1\*20 мл), сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель удаляли, полученное масло хроматографировали на колонке с силикагелем, элюируя системой растворителей этилацетат–метанол, 9.5 : 0.5. Растворитель удаляли, полученное вещество сушили в вакууме масляного насоса. Выход: 1.254 г (94%).  $R_f$  0.52 (этилацетат–метанол, 9.5 : 0.5).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 8.79 (1H, s,  $\text{HN-Thy}$ ), 6.9 (1H, s,  $\text{H-Thy}$ ), 5.92 (1H, m,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 5.34 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 4.64 (2H, q,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 4.54 (2H, d,  $\text{-NH-CH}_2$ -), 4.32 (1H, d,  $\text{CH-Ala}$ ), 3.57 (2H, d,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 1.91 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-Thy}$ ), 1.51 (3H, d,  $\text{CH}_3\text{-Ala}$ ), 1.47 (9H, s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ).

**$\alpha$ -Аллиловый эфир *N*-[(*трет*-бутилоксикарбонил)аминоизопропил]-*N*-(тимин-1-илацетил)глицина (14)** получали аналогично соединению 13 исходя из 95.1 мг (0.51 ммоль) тимин-1-илуксусной кислоты (12), 90.27 мг (0.55 ммоль) DhbtOH, 106.2 мг (0.55 ммоль) EDCNCl, 100 мг (0.36 ммоль) соединения 11 и 0.12 мл (86.6 мг, 0.67 ммоль) DIEA. Выход: 155 мг (96%).  $R_f$  0.47 (этилацетат–метанол, 9.5 : 0.5).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 8.92 (1H, s,  $\text{HN-Thy}$ ), 7.10 (1H, s,  $\text{H-Thy}$ ), 5.91 (1H, m,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 5.38 (2H, m,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 4.61 (2H, q,  $\text{CH}_2\text{-CH}=\text{CH}_2$ ), 4.47 (2H, d,  $\text{-NH-CH}_2$ -), 4.31 (1H, d,  $\text{CH-Ala}$ ), 3.51 (2H, d,  $\text{CH}_2\text{-NH}$ ), 1.92 (3H, s,  $\text{CH}_3\text{-Thy}$ ), 1.47 (9H, s,  $\text{C}(\text{CH}_3)_3$ ), 1.25 (3H, d,  $\text{CH}_3\text{-Ala}$ ).

**$\alpha$ -Аллиловый эфир *N*-[(*трет*-бутилоксикарбонил)аминоизопропил]-*N*-(тимин-1-ил-**

ацетил)глицина (14) (метод смешанных ангидридов). К охлажденному до  $-20^{\circ}\text{C}$  раствору 131.5 мг (0.71 ммоль) тимин-1-илуксусной кислоты (12) и 72.23 мг (78 мкл, 0.71 ммоль) *N*-метилморфолина в 5 мл свежеперегнанного DMF в атмосфере инертного газа добавляли в один прием 97.5 мг (93 мкл, 0.71 ммоль) изобутилхлорформиата. Через 5 мин добавляли 27.94 мг (38 мкл, 0.27 ммоль) триэтиламина с последующим добавлением охлажденного до  $-20^{\circ}\text{C}$  раствора 100 мг (0.367 ммоль) соединения 10 в 1 мл DMF. Реакционную массу перемешивали 30 мин в атмосфере инертного газа при  $-20^{\circ}\text{C}$  и 1 ч при комнатной температуре. Растворитель удаляли. Остаток растворяли в 15 мл этилацетата и последовательно промывали насыщенным раствором NaCl (1\*10 мл), 20% раствором лимонной кислоты (2\*10 мл), насыщенным раствором NaCl (1\*10 мл), насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$  (2\*10 мл) и насыщенным раствором NaCl (1\*10 мл). Органический слой сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ . Растворитель удаляли. Продукт выделяли на колонке (15\*250 мм), элюируя системой растворителей гексан–этилацетат, 2 : 8). Растворитель удаляли, вещество в виде масла сушили в вакууме масляного насоса. Выход: 102 мг (56%).  $R_f$  0.58 (гексан–диэтиловый эфир, 2 : 8).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр идентичен спектру соединения 14, полученного карбодимидным методом.

*N*-[(*трет*-Бутилоксикарбонил)амино-этил]-*N*-(тимин-1-илацетил)-*L*-аланин (15). К раствору 0.90 г (2.05 ммоль) соединения 13 в 10 мл свежеперегнанного THF добавляли 1.85 г

(21.3 ммоль, 1.85 мл) морфолина и 0.24 г (0.21 ммоль)  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$ . Через 1 ч растворитель удаляли, остаток растворяли в хлористом метиле (20 мл) и промывали последовательно раствором NaCl (доведенным до pH 3.0 0.1 М раствором  $\text{KHSO}_4$ ) (3\*10 мл) и насыщенным раствором NaCl (3\*10 мл). Органический слой сушили  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , растворитель удаляли. Полученное масло растворяли в 20 мл хлористого метилена и продукт переосаждали из гексана. Выпавший продукт в виде кристаллов собирали фильтрованием и сушили. Выход: 0.36 г (54%).  $R_f$  0.76 (хлороформ–метанол–уксусная кислота, 9 : 1 : 0.1).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 11.2 (1H, s, HN-Thy), 7.32 (1H, s, H-Thy), 4.62 (2H, s, -N-CH<sub>2</sub>-CO-N-), 4.3 (1H, d, -CH-CH<sub>3</sub>-COOH), 3.31 (2H, m, NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-), 3.29 (2H, m, NH-CH<sub>2</sub>-CH<sub>2</sub>-N-), 1.81 (3H, s, CH<sub>3</sub>-Thy), 1.47 (9H, s, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.41 (3H, d, CH<sub>3</sub>-Ala).

*N*-[(*трет*-Бутилоксикарбонил)амино-изопропил]-*N*-(тимин-1-илацетил)глицин (16) получали аналогично соединению 15 исходя из 1.08 г (2.46 ммоль) соединения 14, 2.22 г (2.22 ммоль) морфолина и 0.28 г (0.248 ммоль)  $[\text{Pd}(\text{PPh}_3)_4]$ . Выход: 0.42 г (43%).  $R_f$  0.47 (хлороформ–метанол–уксусная кислота, 9 : 1 : 0.1).  $^1\text{H}$ -ЯМР-спектр ( $\text{DMSO}-d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 11.30 (1H, s, HN-Thy), 7.24 (1H, s, H-Thy), 4.72 (2H, q, -CH<sub>2</sub>-COOH), 4.07 (2H, s, -N-CH<sub>2</sub>-N-), 3.81 (2H, d, -CH<sub>2</sub>-NH), 3.42 (1H, d, CH-Ala), 1.92 (3H, s, CH<sub>3</sub>-Thy), 1.47 (9H, s, C(CH<sub>3</sub>)<sub>3</sub>), 1.19 (3H, d, CH<sub>3</sub>-Ala).

Работа выполнена при поддержке гранта РФФИ 09-04-01026-а

#### ЛИТЕРАТУРА:

- James, W. Towards gene-inhibition therapy: a review of progress and prospects in the field of antiviral antisense nucleic acids and ribozymes / W. James // *Antiviral Chem. and Chemotherapy*. – 1991. – Vol. 2, № 4. – P. 2796–2823.
- Sequence-selective recognition of DNA by strand displacement with a thymine-substituted polyamide / P. E. Nielsen, M. Egholm, R. H. Berg, O. Buchardt // *Science*. – 1991. – Vol. 254. – P. 1497–1500.
- Nielsen, P. E. Peptide nucleic acids methods and protocols / P. E. Nielsen // *Methods in Mol. Biol.* – Vol. 208. – Humana Press, 2002. – 269 p.
- Peptide nucleic acids with a structurally biased backbone: effects of conformational constraints and stereochemistry / R. Corradini [et al.] // *Curr. Topics in Med. Chem.* – 2007. – Vol. 7. – P. 681–694.
- Синтез тиминсодержащего мономера отрицательно заряженных ПНК / Д. И. Прохоров, Ю. Г. Кириллова, Н. П. Боярская, А. Н. Тевяшова, О. В. Есипова, Е. Н. Звонкова, В. И. Швеиц // *Хим.-фарм. журн.* – 2005. – Т. 39, № 6. – С. 39–43.
- Синтез двух новых тиминсодержащих мономеров отрицательно заряженных ПНК / Н. П. Боярская, Ю. Г. Кириллова, Е. А. Стотланд, Д. И. Прохоров, Е. Н. Звонкова, В. И. Швеиц // *Доклады Академии наук*. – 2006. – Т. 408, № 1. – С. 55–58.
- Твердофазный синтез декамера отрицательно заряженных ПНК с псевдопептидной связью *Gly*- $\Psi$ -*L*-*Gly* / Н. П. Боярская, Ю. Г. Кириллова, Д. С. Есипов, В. И. Швеиц // *Вестник МИТХТ*. – 2007. – Т. 2, № 5. – С. 33–36.
- Боярская, Н. П. Синтез тиминсодержащих отрицательно заряженных пептидно-нуклеиновых кислот различного строения и исследование их гибридационных характеристик : дис.... канд. хим. наук : 02.00.10 : защищена 12.11.07. – М., 2007. – 127 с.
- Synthesis of protected pseudopeptides from dicarboxylic amino acids by Mitsunobu condensation / N. P. Boyarskaya, D. I. Prokhorov, Yu. G. Kirillova, E. N. Zvonkova, V. I. Shvets // *Tetrahedron Lett.* – 2005. – Vol. 46, № 43. – P. 7359–7362.
- McKennon, M. A convenient reduction of amino acids and their derivatives / M. McKennon, A. Meyers // *J. Org. Chem.* – 1993. – Vol. 58, № 13. – P. 3568–3571.
- Гершкович, А. А. Химический синтез пептидов / А. А. Гершкович, В. К. Кибирев. – Киев : Наукова Думка, 1992. – 360 с.
- Friedrich-Bochnitschek, S. Allyl esters as carboxy protecting groups in the synthesis of *O*-glycopeptides / S. Friedrich-Bochnitschek, H. Waldmann, H. Kunz // *J. Org. Chem.* – 1989. – Vol. 54. – P. 751–756.