

Synteza oligodeoksyrybonukleotydów modyfikowanych w obrębie wiązań internukleotydowych atomem azotu lub siarki.

Badania będące przedmiotem niniejszej rozprawy doktorskiej dotyczyły syntezy oligodeoksyrybonukleotydów modyfikowanych w obrębie wiązań internukleotydowych atomem azotu lub siarki.

Pierwsza część badań skupiała się wokół opracowania metody syntezy stereozdefiniowanych oligonukleozydo- $(N3' \rightarrow P5')$ amidotiofosforanów (NPS-oligos) - związków wykazujących aktywność inhibitorową względem ludzkiej telomerazy.

Jako zasadnicze podejście, które mogłoby umożliwić zrealizowanie tego zadania wykorzystałam *metodę oksatiafosfolanową*. Ze względu na to, iż istotą tej metody stanowi użycie diastereomerycznie czystych oksatiafosfolanowych monomerów, celem było zbadanie efektywności ich rozdziału w zależności od rodzaju podstawnika w pozycji 4 ugrupowania 2-tiono-1,3,2-oksatiafosfolanowego. Stąd też poszczególne 5'-O-DMT-3'-amino-2',3'-dideoksynukleozydy fosfitylowałam wobec elementarnej siarki za pomocą trzech różnych odczynników fosfitylujących: 2-chloro-1,3,2-oksatiafosfolanu, 2-chloro-4,4-dimetylo-1,3,2-oksatiafosfolanu i 2-chloro-4,4-spiro-pentametyleno-1,3,2-oksatiafosfolanu. Otrzymane w ten sposób odpowiednie 3'-N-(2-tiono-1,3,2-oksatiafosfolanowe) pochodne poddałam procesowi rozdziału techniką chromatografii kolumnowej na żelu krzemionkowym. Spośród zsyntezowanych przeze mnie pochodnych najlepszy stopień rozdziału uzyskałam w przypadku 4,4-pentametylenowej oksatiafosfolanowej pochodnej 3'-amino-2',3'-dideoksyguanozyny.

Kluczowa w *metodzie oksatiafosfolanowej* reakcja nukleofilowego podstawienia na atomie fosforu wbudowanym w pierścień oksatiafosfolanowy zachodziła wobec DBU jako aktywatora oraz wobec dodatkowo wprowadzonej do mieszaniny reakcyjnej aminy trzeciorzędowej. Spośród badanych amin najlepszą okazała się być trójetyloamina, której zastosowanie pozwalało osiągnąć 88% wydajność etapu kondensacji. W ten sposób zsyntezowałam szereg oligonukleozydo- $(N3' \rightarrow P5')$ amidotiofosforanów, w tym dziesięciomer homotymidylanowy, w którym wszystkie wiązania internukleotydowe były stereozdefiniowane. Jednocześnie wykazałam, że wielkość podstawnika w pozycji 4 pierścienia oksatiafosfolanowego ma znaczący wpływ na wydajność reakcji kondensacji i zmniejsza się ona w szeregu: 3'-N-(2-tiono-1,3,2-oka-

tiafosfolan) > 3'-N-(2-tiono-4,4-dimetylo-1,3,2-oksatiafosfolan) > 3'-N-(2-tiono-4,4-spiro-pentametyleno-1,3,2-oksatiafosfolan).

Innym, alternatywnym w stosunku do *metody oksatiafosfolanowej* podejściem otrzymywania stereozdefiniowanych oligonukleozydo-(N3'→P5')amidotiofosforanów było wykorzystanie wewnątrzcząsteczkowej katalizy nukleofilowej. W prowadzonych przeze mnie badaniach ugrupowanie 4-metoksy-1-oksydo-2-pikolilowe w reakcji kondensacji z nukleozydem stanowiło wewnątrzcząsteczkową grupę katalityczną.

Tym samym odpowiednia 5'-„pikolilowa” pochodna w reakcji z grupą 3'-aminową nukleozydu przyłączonego do złoza wobec TPSCl prowadziła do utworzenia oczekiwanych amidotiofosforanowych pochodnych. Niestety pomimo opracowania optymalnych warunków otrzymywania odpowiednich dinukleotydów wydajność otrzymanego tą metodą tetrameru homotymidylanowego wynosiła w najlepszym wypadku 55%. Jednakże ze względu na brak rozdziału 5'-pikolilowych monomerów na P-diastereomery badania dotyczące tego kierunku reakcji nie były kontynuowane.

Natomiast przeprowadzona w roztworze analogiczna reakcja pomiędzy 5'-pikolilowymi pochodnymi a 5'-O-DMT-3'-amino-2',3'-dideoksynukleozydami pozwoliła na otrzymanie odpowiednich dinukleotydów, które rozdzieliłam na poszczególne P-diastereomery już przy jednokrotnym naniesieniu ich na kolumnę chromatograficzną wypełnioną silikazelem. Związki te, po opracowaniu warunków selektywnego usunięcia grupy dimetoksytrytylowej w obecności grupy trytylowej, mogą być wykorzystane jako bloki budulcowe do wprowadzenia w określoną pozycję oligonukleotydu chiralnego wiązania internukleotydowego.

Ostatnia część niniejszej rozprawy doktorskiej dotyczyła syntezy chimerycznych oligodeoksyrybonukleotydów fosforanowo-tiofosforanowych (PO/PS-oligo).

Wykazałam, że zastosowanie *tert*-butylonadtlenotrójmetylosilanu w miejsce stosowanych standardowo odczynników utleniających (np. I₂/H₂O/Py) pozwala na syntezę chimerycznych PO/PS-oligo z wykorzystaniem mieszanej metody oksatiafosfolanowo-amidofosforynowej. Stosując wspomniany odczynnik i monomeryczne 3'-O-oksatiafosolanowe pochodne nukleozydów otrzymałam serię odpowiednich oligonukleotydów zawierających od 1 do 6 internukleotydowych wiązań tiofosforanowych w obrębie struktury.