

*N*⁶-苯甲酰基-2'-叔丁基二甲基硅氧基腺苷-3'-*H*-磷酸的合成工艺研究

魏会强¹, 奉源², 董正川², 崔鹤², 李祎亮^{1*}, 刘强^{1*}

1. 中国医学科学院 北京协和医学院 放射医学研究所, 天津 300192

2. 天津中医药大学, 天津 300193

摘要: **目的** 研究 *N*⁶-苯甲酰基-2'-叔丁基二甲基硅氧基腺苷-3'-*H*-磷酸的合成工艺。**方法** 以腺苷为起始原料, 先对腺苷的嘌呤氨基进行苯甲酰基保护, 再分别向腺苷的 5'位和 2'位引入二甲氧基三苯甲基 (DMT) 和叔丁基二甲基硅基 (TBDMS) 保护基, 制备得到关键中间体 *N*⁶-苯甲酰基-5'-二甲氧基三苯甲基-2'-叔丁基二甲基硅氧基腺苷 (**3**)。中间体 **3** 与磷试剂 2-氯-4*H*-1,3,2-苯并二氧磷杂环己烷-4-酮反应引入磷酸基团, 最后使用二氯乙酸脱除 DMT 保护基得到目标产物。**结果** 经过 5 步反应得到了目标化合物 *N*⁶-苯甲酰基-2'-叔丁基二甲基硅氧基腺苷-3'-*H*-磷酸, 并利用 ¹H-NMR、³¹P-NMR、质谱等方法验证了其结构。本合成工艺的总收率为 35.7%, 目标化合物的质量分数为 98.5%。**结论** 该合成工艺与原有方法相比步骤短, 操作简单, 具有良好的应用前景。

关键词: *N*⁶-苯甲酰基-2'-叔丁基二甲基硅氧基腺苷-3'-*H*-磷酸; 腺苷; 二甲氧基三苯甲基; 叔丁基二甲基硅基; 合成

中图分类号: R914 **文献标志码:** A **文章编号:** 1674-5515(2017)09-1609-05

DOI: 10.7501/j.issn.1674-5515.2017.09.002

Synthetic technology of *N*⁶-benzoyl-2'-*O*-tert-butyl dimethylsilyl-adenosine-3'-yl-*H*-phosphonate

WEI Hui-qiang¹, FENG Yuan², DONG Zheng-chuan², CUI He², LI Yi-liang¹, LIU Qiang¹

1. Institute of Radiation Medicine, Chinese Academy of Medical Sciences & Peking Union Medical College, Tianjin 300192, China

2. Tianjin University of Traditional Chinese Medicine, Tianjin 300193, China

Abstract: Objective To study the synthetic technology of *N*⁶-benzoyl-2'-*O*-tert-butyl dimethylsilyl-adenosine-3'-yl-*H*-phosphonate. **Methods** Adenosine was used as the starting material. The *N*⁶ amino group of adenosine was protected by benzoyl, following with the introducing protecting groups of dimethoxytrityl (DMT) and tert-butyl dimethylsilyl (TBDMS) to the 5' and 2' positions of adenosine respectively, obtaining the key intermediate of *N*⁶-benzoyl-5'-*O*-dimethoxytrityl-2'-*O*-tert-butyl dimethylsilyl-adenosine (**3**). The reagent of 2-chloro-4*H*-1,3,2-benzodioxaphosphorin-4-one was used to introduce phosphonate group to the 3' position of intermediate **3**. DMT group was deprotected by dichloroacetic acid and the target compound was obtained. **Results** The target compound of *N*⁶-benzoyl-2'-*O*-tert-butyl dimethylsilyl-adenosine-3'-yl-*H*-phosphonate was achieved and characterized by ¹H-NMR, ³¹P-NMR, and MS. The total yield of this synthetic route was 35.7%. And the purity of target compound was 98.5%. **Conclusion** The synthetic process is superior to former with simple operations and simplified methods, which has a good application prospect.

Key words: *N*⁶-benzoyl-2'-*O*-tert-butyl dimethylsilyl-adenosine-3'-yl-*H*-phosphonate; adenosine; DMT; TBDMS; synthesis

核苷是构成核酸的重要组成部分, 在生命活动中起着至关重要的作用。核苷类似物在抗肿瘤和抗病毒领域得到广泛应用, 已经有多种核苷类似物

为抗肿瘤或抗病毒药物被应用于上述疾病的一线治疗中。近年来反义寡核苷酸疗法 (简称反义疗法) 得到了极大进展。反义疗法可治疗人体许多疾病,

收稿日期: 2017-08-02

基金项目: 国家自然科学基金资助项目 (31670859); 中国医学科学院医学与健康科技创新工程项目 (2016-I2M-3-022); 中国医学科学院“中央级公益性科研院所基本科研业务费 (2016ZX310068、2016ZX310198、2016RC310019、2016RC310017); 协和小规模特色办学经费 (10023201601602)

作者简介: 魏会强 (1988—), 男, 河北石家庄人, 博士, 从事辐射防护药物和抗肿瘤药物的研究。E-mail: wakie0208@163.com

***通信作者** 李祎亮 Tel: (022)85682077 E-mail: liyiliang75@163.com

刘强 Tel: (022)85680279 E-mail: liuqiang@irm-cams.ac.cn

如阻止损伤或缺陷基因的表达,抑制外源病原体遗传物质的复制等^[1-2]。反义疗法的作用靶点是人体内的核苷酸序列(如 mRNA),即通过寡核苷酸(即人工合成的 DNA 或 RNA 单链片段)与特定核苷酸序列结合抑制某种致病基因表达,阻断该致病基因蛋白的翻译过程,达到治疗疾病的目的^[3-5]。与传统药物相比,反义药物具有更高的特异性、更优的疗效和更低的毒性。

寡核苷酸的制备以化学固相合成为主^[6-7],需要

将多种核苷酸单体合成砌块进行连接,再经过特殊的处理方法断裂得到相应寡核苷酸链^[8-9]。 N^6 -苯甲酰基-2'-叔丁基二甲基硅氧基腺苷-3'- H -磷酸作为一种应用较多的寡核苷酸合成砌块,是反义寡核苷酸药物研究中的关键医药中间体,有非常重要的作用和研究前景。本研究以腺苷为起始原料,经过对嘌呤氨基和核糖 5'和 2'位羟基的保护,然后在其 3'位引入磷酸基团,最后脱除 5'位保护基得到目标化合物,总收率为 35.7%。合成路线见图 1。

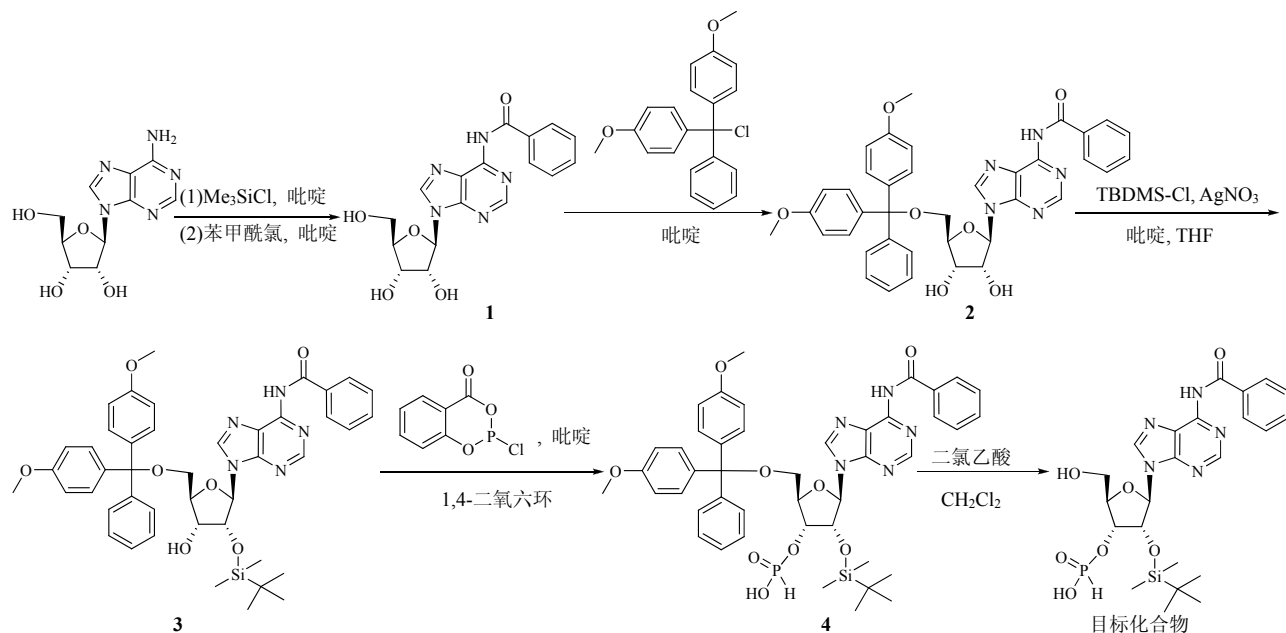


图1 目标化合物的合成路线

Fig. 1 Synthetic route of target compounds

1 仪器与试剂

Bruker AV 400 型核磁共振仪(瑞士 Bruker 公司); Agilent 1200 HPLC-6310 型液相色谱质谱联用仪(美国安捷伦公司); Waters-2695 型高效液相色谱仪配备 2998 型二极管阵列检测器(美国 Waters 公司); X-5 显微熔点测定仪(北京泰克仪器有限公司)。

腺苷(质量分数 $\geq 99.5\%$, 安徽省芜湖市华仁科技有限公司); 2-氯-4*H*-1,3,2-苯并二氧磷杂环己烷-4-酮(质量分数 $\geq 97.0\%$, 东京化成工业株式会社); GF254 型薄层色谱硅胶板(山东省青岛海洋化工厂); 其他试剂均为市售分析纯,未经进一步纯化处理。

2 方法与结果

2.1 N^6 -苯甲酰基腺苷(1)的合成

称取腺苷(50 g, 187.1 mmol)加入到 200 mL

干燥吡啶中,在冰浴下将三甲基氯硅烷(73.5 g, 676.5 mmol)滴加入体系,滴加完毕后移至室温反应,二氯甲烷-甲醇(7:1)为展开剂,TLC 监测反应进行,体系呈白色浑浊。原料消耗完全后,移至冰浴,滴加入异丁酰氯(32.1 g, 228.3 mmol),体系由白色浑浊逐渐变为淡黄色浑浊。TLC 监测至反应完全,在冰浴下加入 65 mL 水,搅拌 1 h,减压蒸干溶剂,得到黄色油状物,冷却至室温后加入冷水搅拌,有大量白色固体析出,滤过,滤饼用冷水再洗一遍,干燥后得到 N^6 -苯甲酰基腺苷(1)的粗品 66.05 g,粗品用 1.5 倍量的水重结晶,干燥后得到化合物 1 的白色粉末 58.45 g,收率 84.1%,质量分数 99.6%,保留时间 8.28 min。mp 150.3~151.1 °C,文献值 152 °C^[10]。ESI-MS m/z : 372.6 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.22 (s, 1H,

N-H), 8.77 (s, 1H, H-2), 8.73 (s, 1H, H-8), 8.05 (d, $J=7.8$ Hz, 2H, H-Ar), 7.65 (m, 1H, H-Ar), 7.56 (m, 2H, H-Ar), 6.05 (d, $J=4.7$ Hz, 1H, H-1'), 5.58 (d, $J=5.4$ Hz, 1H, OH-2'), 5.26 (d, $J=2.8$ Hz, 1H, OH-3'), 5.14 (s, 1H, OH-5'), 4.66 (d, $J=4.8$ Hz, 1H, H-2'), 4.20 (m, 1H, H-3'), 3.99 (m, 1H, H-4'), 3.70 (m, 1H, H-5a'), 3.59 (m, 1H, H-5b').

2.2 N^6 -苯甲酰基-5'-二甲氧基三苯甲氧基腺苷 (2) 的合成

称取化合物 1 (36 g, 96.9 mmol) 加入到 200 mL 干燥吡啶中, 135 °C 常压蒸馏 3 次, 将残余物溶于 125 mL 吡啶中, 冷却至室温, 将二甲氧基三苯甲氧基氯 (49.24 g, 145.35 mmol) 溶于 50 mL 吡啶中, 滴加入体系, 二氯甲烷-甲醇 (8:1) 为展开剂, TLC 监测反应进行。反应完成后将反应液倒入 250 mL 饱和碳酸氢钠溶液中, 搅拌 15 min, 水溶液用醋酸乙酯 (250 mL $\times$ 2) 萃取, 合并有机层, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂得到黄色油状物, 石油醚-醋酸乙酯 (2:1 $\rightarrow$ 1:2) 梯度洗脱, 硅胶柱色谱分离得到化合物 2 的白色粉末 56.47 g, 收率 86.5%。质量分数 99.8%, 保留时间 8.89 min。mp 112.4~113.6 °C, 文献值 113~115 °C^[11]。ESI-MS m/z : 674.7 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.25 (s, 1H, N-H), 8.69 (s, 1H, H-2), 8.60 (s, 1H, H-8), 7.65-7.35 (m, 5H, H-Ar), 7.30 (m, 13H, H-Ar), 6.07 (d, $J=4.7$ Hz, 1H, H-1'), 5.66 (s, 1H, OH-2), 5.30 (s, 1H, OH-3), 4.79 (m, 1H, H-2), 4.34 (m, 1H, H-3), 4.14 (m, 1H, H-4), 3.73 (s, 6H, OCH₃), 3.27~3.22 (m, 2H, H-5a, H-5b'), 上述数据与文献报道一致^[12]。

2.3 N^6 -苯甲酰基-5'-二甲氧基三苯甲氧基-2'-叔丁基二甲基硅氧基腺苷 (3) 的合成

称取化合物 2 (15 g, 22.3 mmol) 加入到 150 mL 干燥四氢呋喃中, 加入 5 mL 干燥吡啶和硝酸银 (5.68 g, 33.5 mmol), 反应瓶包裹上锡箔纸避光, 室温下搅拌, 加入叔丁基二甲基硅基氯 (5.83 g, 37.9 mmol), 氯仿-丙酮 (12:1) 为展开剂, TLC 监测反应进行。原料消耗完毕后, 滤过, 不溶物用二氯甲烷洗一遍, 收集滤液。减压蒸干滤液, 将残余物用 200 mL 二氯甲烷溶解, 依次用 150 mL 饱和碳酸氢钠溶液和 150 mL 水洗, 有机层用无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂后得到黄色油状物, 石油醚-醋

酸乙酯 (15:1 $\rightarrow$ 2:3) 梯度洗脱, 硅胶柱色谱分离得到化合物 3 的白色固体粉末 8.81 g。此外分别得到 3'-O-TBDMS 和 2',3'-di-O-TBDMS 副产物 5.88 g 和 1.3 g, 合并副产物, 在 5% 四丁基氟化铵的四氢呋喃溶液中室温反应 20 min, 脱除硅保护基, 二氯甲烷-甲醇 (100:0 $\rightarrow$ 95:5) 梯度洗脱, 硅胶柱色谱分离回收得到化合物 2 的白色粉末 4.75 g。将回收的化合物 2 按照上述操作继续反应, 得到化合物 3 的白色粉末 3.05 g, 共计得到 11.86 g, 收率 67.5%。质量分数 99.5%, 保留时间 62.14 min。mp 86.3~88.1 °C。ESI-MS m/z : 788.9 $[M+H]^+$ 。¹H-NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.21 (s, 1H, N-H), 8.64 (s, 1H, H-2), 8.58 (s, 1H, H-8), 8.01 (d, $J=7.8$ Hz, 2H, H-Ar), 7.62 (m, 1H, H-Ar), 7.54~7.50 (m, 2H, H-Ar), 7.37 (d, $J=7.8$ Hz, 2H, H-Ar), 7.23 (d, $J=8.8$ Hz, 6H, H-Ar), 6.83 (dd, $J=8.8$ 、2.0 Hz, 4H, H-Ar), 6.06 (d, $J=4.8$ Hz, 1H, H-1'), 5.21 (d, $J=6.0$ Hz, 1H, OH-3), 4.88 (t, $J=5.0$ Hz, 1H, H-3), 4.27 (dd, $J=10.5$ 、5.0 Hz, 1H), 4.12 (d, $J=4.5$ Hz, 1H, H-4), 3.70 (s, 6H, OCH₃), 3.27 (m, 2H, H-5a, H-5b), 0.76 (s, 9H, *t*-BuSi), -0.03 (s, 3H, MeSi), -0.12 (s, 3H, MeSi), 上述数据与文献报道一致^[13]。

2.4 N^6 -苯甲酰基-5'-二甲氧基三苯甲氧基-2'-叔丁基二甲基硅氧基腺苷-3'-H-磷酸 (4) 的合成

称取化合物 3 (5 g, 6.34 mmol) 加入到 25 mL 干燥 1,4-二氧六环中, 加入 8 mL 干燥吡啶, 室温下搅拌。将 (1.86 g, 8.88 mmol) 2-氯-4*H*-1,3,2-苯并二氧磷杂环己烷-4-酮溶于 15 mL 干燥 1,4-二氧六环中, 滴加入体系, 有白雾生成, 体系逐渐变浑浊。滴加完后继续反应 0.5 h, 向体系中加入 5 mL 水淬灭反应, 体系变澄清。将反应液滴加入 100 mL 饱和碳酸氢钠水溶液中, 加入少量碳酸钠溶液调 pH 值至 8~9, 有黏稠物析出, 加入 120 mL 醋酸乙酯萃取, 有机层依次用饱和碳酸氢钠溶液 (100 mL $\times$ 2) 和饱和食盐水 (100 mL) 洗, 无水硫酸钠干燥, 减压蒸干溶剂得浅棕色固体, 用少量二氯甲烷溶解后滴加入 30 mL 醋酸乙酯中, 析出不溶物, 滤过, 得到化合物 4 的浅黄色固体 3.85 g。滤液静置过夜后析出化合物 4 的不溶物, 滤过, 得 0.62 g, 共计 4.47 g, 收率 82.6%。质量分数 96.0%, 保留时间 54.72 min。ESI-MS m/z : 850.6 $[M-H]^-$; ³¹P-NMR (162 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.30。¹H-NMR (400 MHz,

DMSO- d_6) δ : 11.26 (s, 1H, N-H), 8.62 (s, 1H, H-2), 8.54 (s, 1H, H-8), 8.06 (d, $J=6.9$ Hz, 2H, H-Ar), 7.65 (m, 1H, H-Ar), 7.56 (m, 2H, H-Ar), 7.40 (d, $J=4.0$ Hz, 2H, H-Ar), 7.24 (m, 7H, H-Ar), 6.84 (d, $J=5.9$ Hz, 4H, H-Ar), 6.77 (d, $J=596$ Hz, 1H, P-H), 6.14 (s, 1H, H-1), 5.11 (m, 1H, H-3), 4.69 (m, 1H, H-2), 4.42 (m, 1H, H-4), 3.71 (s, 6H, OCH₃), 3.45 (m, 1H, H-5a), 3.26 (m, 1H, H-5b), 0.70 (s, 9H, *t*-BuSi), -0.01 (s, 3H, MeSi), -0.21 (s, 3H, MeSi)。

2.5 N^6 -苯甲酰基-2'-叔丁基二甲基硅氧基腺苷-3'-H-磷酸的合成

称取化合物 **4** (2 g, 2.35 mmol) 溶于 30 mL 二氯甲烷中, 加入 0.5 mL 水, 室温下搅拌。称取 6% 二氯乙酸的二氯甲烷溶液 (20.20 g, 9.40 mmol), 滴加入体系, 体系变为橘红色。滴完 15 min 后, 加入 1.6 mL 吡啶淬灭反应, 体系变为浅黄色。减压蒸干溶剂, 溶于少量二氯甲烷中, 滴加入 50 mL 甲基叔丁基醚中, 析出大量白色不溶物, 滤过, 得到目标化合物的白色粉末 1.14 g, 收率 88.0%。质量分数 98.5%, 保留时间 37.51 min。ESI-MS m/z : 548.5 $[M-H]^-$; ^{31}P -NMR (162 MHz, DMSO- d_6) δ : 0.15; ^1H -NMR (400 MHz, DMSO- d_6) δ : 11.27 (s, 1H, N-H), 8.82 (s, 1H, H-2), 8.78 (s, 1H, H-8), 8.06 (d, $J=8.0$ Hz, 2H, H-Ar), 7.66 (m, 1H, H-Ar), 7.55 (m, 2H, H-Ar), 6.11 (s, 1H, H-1), 5.33 (brs, 1H, OH-5), 5.10 (d, $J=712$ Hz, 1H, P-H), 4.84 (m, 2H, H-2, 3), 4.33 (m, 1H, H-4), 3.87 (m, 1H, H-5a), 3.74 (m, 1H, H-5b), 0.73 (s, 9H, *t*-BuSi), -0.03 (s, 3H, MeSi), -0.18 (s, 3H, MeSi)。

此合成工艺的总收率为 35.7%。

3 讨论

3.1 中间体 **3** 的合成

中间体 **3** 的合成已经有多篇文献进行报道。文献报道采用二叔丁基二氯硅烷 (DBS) 选择性保护中间体 **1** 的 5' 和 3' 位羟基, 再使用叔丁基二甲基氯硅烷 (TBDMS) 保护 2' 位羟基, DBS 保护基可被 HF-吡啶溶液在温和条件下脱除而不影响 TBDMS 保护基, 最后在 5' 位引入对苯二甲酸二甲酯 (DMT) 保护基得到中间体 **3**^[14]。该方法能够专一性地得到 2' 位保护的中间体 **3**, 避免了异构体的生成; 但是具

有反应步骤较多、分离纯化复杂等缺点, 另外二叔丁基二氯硅烷的价格昂贵, 也限制了该法在大规模反应中应用的前景。文献报道采用了一种新型手型噁唑烷基咪唑不对称催化剂选择性地对核苷的 2' 位羟基进行硅烷基化, 能够以 82% 的高产率得到中间体 **3**^[13], 但是该催化剂的使用量较多 (物质的量约 20%) 且合成难度较大, 限制了其大规模使用。

本课题组选择传统的合成方法, 采用价格低廉的叔丁基二甲基氯硅烷作为硅烷基化试剂, 加入硝酸银作为催化剂来制备中间体 **3**。在该反应中, 中间体 **3** 是主产物, 同时得到 3'-*O*-TBDMS 和 2',3'-*O*-TBDMS 两种副产物, 通过硅胶柱色谱分离的方法将产物分离纯化。两种副产物经过四丁基氟化铵的脱硅保护作用, 回收得到原料 **2**, 可再次用于中间体 **3** 的合成中, 回收后化合物 **3** 的累积收率可以接近 70%。本方法操作简单易行, 原料价格低廉, 经过对副产物的回收处理后, 中间体 **3** 的收率比较理想, 具有良好的应用前景。

3.2 在核苷中引入 3'-H-磷酸基的方法

磷酸基是寡核苷酸合成砌块的重要官能团, 能够与其他砌块连接形成长链或者环状寡核苷酸。目前在核苷中引入 3'-*H*-磷酸基的方法主要是亚磷酸胺衍生物的水解和消除^[15-17]。亚磷酸胺单体是合成寡核苷酸的原料, 一般由 2-氰基乙基-*N,N*-二异丙基氯代亚磷酸胺 (CED-Cl) 与相应核苷在有机碱催化下生成, 或由 2-氰基乙基-*N,N,N',N'*-二异丙基亚磷酸二胺与相应核苷在四氮唑催化下生成^[18-19]。这两个反应对水敏感, 需要在无水条件下进行, 生成的核苷酸亚磷酸胺单体需要经过柱色谱分离纯化, 而且在常温下易分解变质, 一般需在 -20 °C 下保存, 加上两种磷试剂价格昂贵且不易储存, 使得这种先制备核苷酸亚磷酸胺单体再水解得到磷酸基衍生物的方法不适合放大反应。

2-氯-4*H*-1,3,2-苯并二氧磷杂环己烷-4-酮在一些文献中被报道用于核苷衍生物的磷酸化反应, 磷酸化直接发生在核苷游离羟基上, 且反应条件温和, 不影响分子内其他保护基^[20-21]。基于上述分析, 本课题组采用 2-氯-4*H*-1,3,2-苯并二氧磷杂环己烷-4-酮作为磷酸化试剂, 避免了制备核苷酸亚磷酸胺单体再水解的步骤, 操作简单, 产品不需柱色谱分离纯化。此外, 2-氯-4*H*-1,3,2-苯并二氧磷杂环己烷-4-酮的价格相比上述两种亚磷酸胺试剂更为低廉, 经济性更高。

综上所述, 本合成方法与文献报道方法相比步骤短, 操作简单易行, 具有良好的应用前景。

参考文献

- [1] Agrawal S, Zhao Q. Antisense therapeutics [J]. *Curr Opin Chem Biol*, 1998, 2: 519-528.
- [2] Inoue T. Oligonucleotide therapeutics: past, present and future [J]. *Drug Deliv Syst*, 2016, 31(1): 10-23.
- [3] Gurav B, Srinivasan G. Antisense oligonucleotides as therapeutics and their delivery [J]. *Curr Sci*, 2017, 112(3): 490-498.
- [4] Chi X, Gatti P, Papoian T. Safety of antisense oligonucleotide and siRNA-based therapeutics [J]. *Drug Discov Today*, 2017, 22(5): 823-833.
- [5] Moschos S A, Usher L, Lindsay M A. Clinical potential of oligonucleotide-based therapeutics in the respiratory system [J]. *Pharmacol Ther*, 2017, 169: 83-103.
- [6] Lyttle M H, Wright P B, Sinha N D, *et al.* New nucleoside phosphoramidites and coupling protocols for solid-phase RNA synthesis [J]. *J Org Chem*, 1991, 56(15): 4608-4615.
- [7] Li N S, Frederiksen J K, Piccirilli J A. Synthesis, properties, and applications of oligonucleotides containing an RNA dinucleotide phosphorothiolate linkage [J]. *Acc Chem Resea*, 2011, 44(12): 1257-1269.
- [8] Büttner L, Javadi-Zarnaghi F, Höbartner C. Site-specific labeling of RNA at internal ribose hydroxyl groups: terbium-assisted deoxyribozymes at work [J]. *J Am Chem Soc*, 136(22): 8131-8137.
- [9] Véliz E A, Stephens O M, Beal P A. Synthesis and analysis of RNA containing 6-trifluoromethylpurine ribonucleoside [J]. *Org Lett*, 2001, 3(19): 2969-2972.
- [10] Damha M J, Ogilvie K K. Synthesis and spectroscopic analysis of branched RNA fragments: messenger RNA splicing intermediates [J]. *J Org Chem*, 1988, 53(16): 3710-3722.
- [11] Hakimelahi G H, Proba Z A, Ogilvie K K. New catalysts and procedures for the dimethoxytritylation and selective silylation of ribonucleoside [J]. *Can J Chem*, 1982, 60(9): 1106-1113.
- [12] Downey A M, Pohl R, Roithová J, *et al.* Synthesis of nucleosides through direct glycosylation of nucleobases with 5-O-monoprotected or 5-modified ribose: improved protocol, scope, and mechanism [J]. *Chemistry*, 2017, 23(16): 3910-3917.
- [13] Blaisdell T P, Lee S, Kasaplar P, *et al.* Practical silyl protection of ribonucleosides [J]. *Org Lett*, 2013, 15(18): 4710-4713.
- [14] Serebryany V, Beigelman L. Synthesis of 2'-O-substituted ribonucleosides [J]. *Nucleosides Nucleotides Nucleic Acids*, 2003, 22(5/8): 1007-1009.
- [15] Gaffney B L, Veliath E, Zhao J, Jones R A. One-flask syntheses of c-di-GMP and the [Rp,Rp] and [Rp,Sp] thiophosphate analogues [J]. *Org Lett*, 2010, 12(14): 3269-3271.
- [16] Gaffney B L, Jones R A. One-flask synthesis of cyclic diguanosine monophosphate (c-di-GMP) [J]. *Curr Protoc Nucleic Acid Chem*, 2012, doi: 10.1002/0471142700.nc1408s48.
- [17] Singh A, Tolev M, Schilling C I, *et al.* Solution-phase synthesis of branched DNA hybrids via H-phosphonate dimers [J]. *J Org Chem*, 2012, 77(6): 2718-2728.
- [18] Sanghvi Y S, Guo Z Q, Pfundheller H M, *et al.* Improved process for the preparation of nucleosidic phosphoramidites using a safer and cheaper activator [J]. *Org Proc Res Dev*, 2000, 4(3): 175-181.
- [19] Beigelman L, Karpeisky A, Serebryany V, *et al.* Methods for synthesizing nucleosides, nucleoside derivatives and non-nucleoside derivatives [P]. US: 2002/0150936, 2002-10-17.
- [20] Zhang Z, Gaffney B L, Jones R A. c-di-GMP displays a monovalent metal ion-dependent polymorphism [J]. *J Am Chem Soc*, 2004, 126(51): 16700-16701.
- [21] Dubensky T W, Kanne D B, Leong M L L, *et al.* Compositions comprising cyclic purine dinucleotides having defined stereochemistries and methods for their preparation and use [P]. US: 2014/0205653, 2014-07-24.