



УДК 547.92'577.113.6.057

© 1991 г.

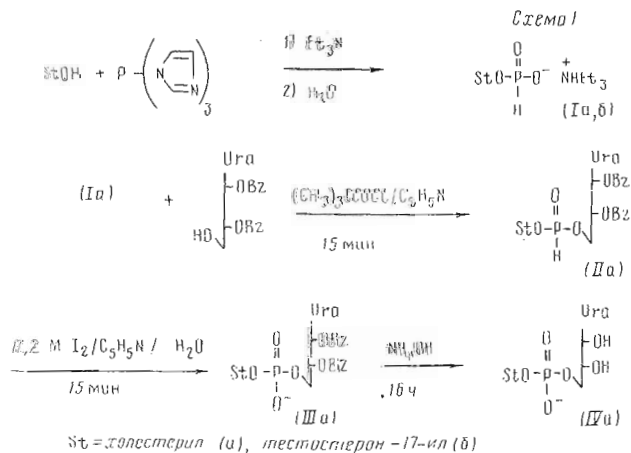
А. Г. Венъяминова, З. А. Сергеева, В. З. Баширова

# Н-ФОСФОНАТЫ ГИДРОКСИСТЕРОИДОВ — НОВЫЕ КЛЮЧЕВЫЕ СОЕДИНЕНИЯ ДЛЯ СИНТЕЗА СТЕРОИДСОДЕРЖАЩИХ МОНО- И ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ И ИХ АНАЛОГОВ

Новосибирский институт биоорганической химии СО АН СССР

Недавно было показано, что введение в олигодезоксирибонуклеотиды ковалентно связанных стероидных группировок увеличивает их способность связываться с клеточными мембранами и проникать в клетки [1—3]. Химический синтез использованных в работах [1, 2] 5'- и 3'-стероидсодержащих декатимидилатов был осуществлен в условиях гомогенного фосфотриэфирного метода [4]. Известные преимущества твердофазного метода стимулируют поиск твердофазных способов синтеза производных олигонуклеотидов, в частности стероидсодержащих производных. Так, Летсингером [3] описан твердофазный вариант синтеза олигодезоксирибонуклеотидов и их фосфотиоатных аналогов, несущих остаток холестерина, связанный фосфамидной связью с межнуклеозидным атомом фосфора на 3'-конце олигонуклеотида. В качестве ключевого производного холестерина при этом использован холестерилноксикарбониламиноэтиламин.

В настоящей работе предлагается новый способ введения стероидных остатков в моно- и олигонуклеотиды, основанный на использовании в качестве ключевых соединений Н-фосфонатов гидроксилсодержащих стероидов (Ia, б). Эти новые представители класса Н-фосфонатов получены по аналогии с нуклеозид-Н-фосфонатами [5] взаимодействием соответствующего стероида с триимидазолидом фосфора в смеси абс. ацетонитрила и хлороформа (1 : 1) в присутствии триэтиламина с последующим гидролизом продукта реакции (схема 1).



Соединения (Ia, б) выделены хроматографией на силикагеле (градиент концентрации этанола в хлороформе ((0 → 50%) + 1% Et<sub>3</sub>N) с выходом 80—85%. Их строение подтверждено ИК-, <sup>1</sup>H- и <sup>31</sup>P-ЯМР-спектральными

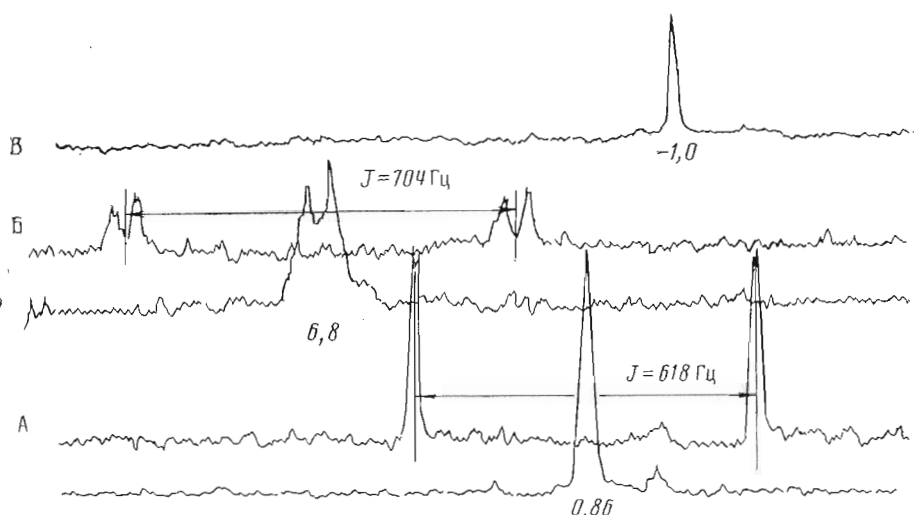
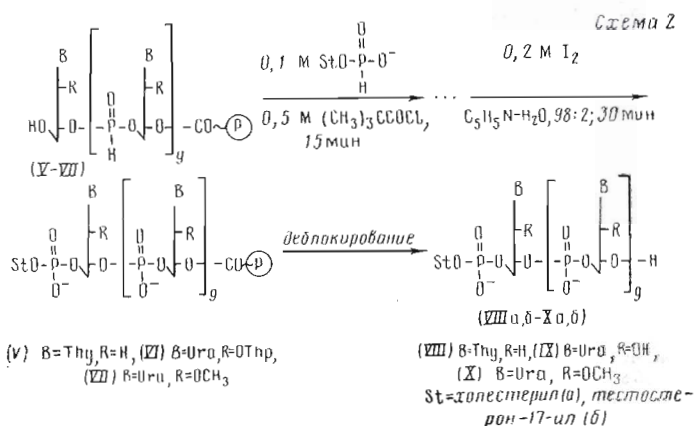


Рис. 1.  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектры (спектры записаны с подавлением и без подавления спин-спинового взаимодействия): А — исходный Н-фосфонат холестерина; Б — смесь Н-фосфоната холестерина, дибензоилуридина и пивалоилхлорида через 15 мин после начала реакции; В — та же смесь после окисления 0,2 М  $\text{I}_2$  в  $\text{C}_5\text{H}_5\text{N}/\text{H}_2\text{O}$  (98 : 2)

данными; кроме того, соединение (Iб) охарактеризовано с помощью УФ-спектра. Реакционная способность полученных Н-фосфонатов (Iа, б) показана на примере синтеза производного уридина, содержащего остаток холестерина (IVа).

Из приведенных спектров  $^{31}\text{P}$ -ЯМР (рис. 1) можно видеть, что исходный Н-фосфонат холестерина (Iа) ( $\delta$  0,86 м.д.) в присутствии пивалоилхлорида и пиридина быстро и количественно реагирует с 2',3'-ди-О-бензоилуридином, приводя к диалкил-Н-фосфонату (IIа) ( $\delta$  6,7 и 7,2 м.д.), который при окислении превращается в фосфодиаэфир (IIIа) ( $\delta$  —1,0 м.д.); последний выделен хроматографией на силикагеле с выходом 75 %. После удаления бензоильных групп соединения (IIIа) обработкой конц.  $\text{NH}_4\text{OH}$  и последующей хроматографии продукта реакции на силикагеле получено соединение (IVа) с выходом 64 %; строение последнего подтверждено  $^{31}\text{P}$ -ЯМР-спектром. Аналогичным образом из Н-фосфоната тестостерона синтезированы соответствующие производные уридина и аденозина.

На основе полученных данных разработан твердофазный метод синтеза 5'-стероидсодержащих олигонуклеотидов. Этим методом получены декануклеотиды, содержащие остаток холестерина (VIIа—Ха) и тестостерона (VIIб—Хб) с высоким выходом (80—90 %) (схема 2), причем при выделении этих соединений применяли ионообменную и обращенно-фазовую хроматографию (рис. 2).



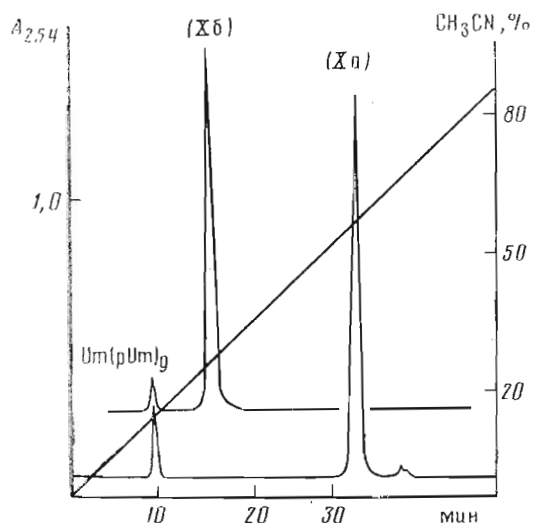


Рис. 2. Обращенно-фазовая хроматография при выделении холестеринового (Ха) и тестостеронового (Хб) производного 2'-О-метилдекауридилата. Колонка (4,6 × 250 мм) с Li-chrosorb RP-18, скорость элюции 2 мл/мин, градиент концентрации  $\text{CH}_3\text{CN}$  в 0,05 M  $\text{LiClO}_4$ .

Таким образом, предложенный метод позволяет получать стероидные производные моно- и олигонуклеотидов дезоксирибо-, риборяда и их аналогов как в растворе, так и на полимерном носителе.

Авторы благодарят Е. М. Иванову и М. Н. Репкову за полезную дискуссию и помощь в работе.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Bourtou A. S., Gus'kova L. V., Ivanova E. M., Kobetz N. D., Zarytova V. F., Ryte A. S., Yurchenko L. V., Vlassov V. V. // FEBS Lett. 1989. V. 47. № 1, 2. P. 129—132.
2. Буторин А. С., Власов В. В., Гуськова Л. В., Зарытова В. Ф., Иванова Е. М., Кобец Н. Д., Райм А. С., Юрченко Л. В. // Молекулярн. биология. 1989. Т. 23. В. 5. С. 1382—1390.
3. Letsinger P. L., Zhang G., Sun D. K., Ikeuchi T., Sarin P. S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1989. V. 86. № 17. P. 6553—6557.
4. Зарытова В. Ф., Иванова Е. М., Часовских М. Н. // Биоорган. химия. 1990. Т. 16. № 5. С. 610—616.
5. Garegg P. J., Regberg T., Stawinski J., Strömberg R. // Chem. Scr. 1986. V. 26. № 6. P. 59—62.

Поступило в редакцию  
18.II.1991

A. G. VENYAMINOVA, Z. A. SERGEYEVA, V. Z. BASHIROVA

#### H-PHOSPHONATES OF HYDROXYSTEROLS AS NEW KEY COMPOUNDS FOR THE SYNTHESIS OF STEROL DERIVATIVES OF MONO-, OLIGONUCLEOTIDES AND THEIR ANALOGUES

*Novosibirsk Institute of Bioorganic Chemistry, Siberian Division, Academy of Sciences of the USSR, Novosibirsk*

A simple and effective method of synthesis of mono- and oligonucleotide sterol derivatives via hydroxysterol H-phosphonates is exemplified by attaching cholesterol and testosterone to the 5'-end of properly protected ribonucleosides or immobilized decanucleotides of deoxyribo- and ribo-series and their 2'-O-methyl-analogues.

Технический редактор Н. Н. Беляева

|                        |                             |                                      |
|------------------------|-----------------------------|--------------------------------------|
| Сдано в набор 19.06.91 | Подписано к печати 07.08.91 | Формат бумаги 70×108 <sup>1/16</sup> |
| Высокая печать         | Усл. печ. л. 12,6           | Уч.-изд. л. 15,0                     |
| Тираж 738 экз.         | Зак. 1610                   | Бум. л. 4,5                          |
|                        |                             | Цена 2 р. 60 к.                      |

Адрес редакции: 117871, ГСП-7, Москва, В-437, ул. Миклухо-Маклая, 16/10, корп. 32, комн. 306  
Телефон: 330-60-38

2-я типография издательства «Наука», 121099, Москва, Г-99, Шубинский пер., 6