



УДК 577.113.3

СИНТЕЗ БИОТИНИЛИРОВАННОГО АНАЛОГА 2'-ДЕЗОКСИУРИДИН-5'-ТРИФОСФАТА

© 1998 г. А. М. Мурабулдаев, Н. Ф. Закирова, Л. А. Александрова[#]

Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, 117984, Москва, ул. Вавилова, 32

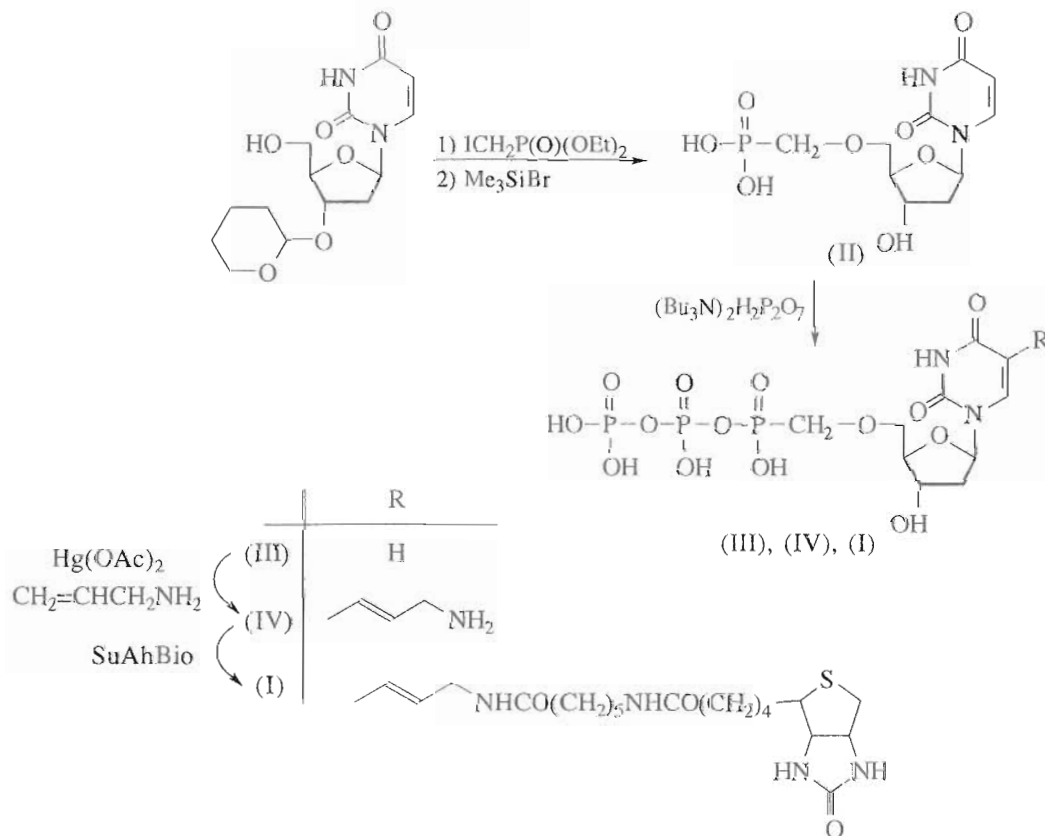
Поступило в редакцию 8.12.97 г. Принято к печати 11.02.98 г.

Осуществлен синтез 5-(3-аминопропен-1-ил)-5'-O-(β,γ-дифосфорил-α-фосфонометил)-2'-дезоксинуридина и 5-[3-(N-биотинил-6-аминогексаноиламино)пропен-1-ил]-5'-O-(β,γ-дифосфо-α-фосфонометил)-2'-дезоксинуридина, потенциальных субстратов ДНК-полимераз α и δ.

Ключевые слова: нуклеозиды, нуклеотиды, ДНК-полимеразы.

Недавно было показано [1, 2], что 2',3'-дидезокси-5'-O-(β,γ-дифосфорил-α-фосфонометил)тимидин является высокоселективным субстратом ДНК-полимераз α и δ из плаценты человека, причем во втором случае только в присутствии вспомогательного белка PCNA (ядерный антиген пролиферирующих клеток). Этот аналог dNTP не узнавался ни ДНК-полимеразой ε из плаценты человека, ни ретровирусными обратными транскриптазами, ни другими ДНК-полимеразами. Для

дальнейшего изучения свойств основных репликативных ДНК-полимераз α, δ и ε представлялось целесообразным синтезировать аналоги dNTP, содержащие лигандные или репортерные группы, в первую очередь остаток биотина, а именно 5-[3-(N-биотинил-6-аминогексаноиламино)пропен-1-ил]-5'-O-(β,γ-дифосфорил-α-фосфонометил)-2'-дезоксинуридин (I). На первом этапе синтеза конденсацией 3'-O-(2-тетрагидропиранил)-2'-дезоксинуридина [3] с моноэтиловым эфиром



[#] Автор для переписки (тел. (095) 135-60-65, факс: (095) 135-14-05, e-mail: Chernov@imb.imb.ac.ru).

иодметилфосфоновой кислоты по методу [4] был получен 5'-*O*-фосфонометил-2'-дезоксуридин (II).

Нам представлялось удобным использовать в этом синтезе стабильную в присутствии сильных оснований тетрагидропиранильную защитную группу [5], которая удалялась при обработке триметилбромсиланом одновременно с этильной группой эфира.

Для синтеза аналога трифосфата (III) соединение (II) активировали *N,N'*-карбонилдиимидазолом и конденсировали с бис-трибутиламмониевой солью пиродифосфорной кислоты. Введение в соединение (III) аллиламина по положению 5 урацила проводили по аналогии с методом работы [6]. В результате был получен синтон (IV), который может быть использован для введения различных репортерных групп в молекулу аналога dUTP. Далее соединение (IV) конденсировали с *N*-оксисукцинимидным эфиром *N*-биотинил-6-аминогексановой кислоты (SuAbBio) в DMF в присутствии триэтиламина и *N*-метилимидазола в качестве катализаторов [6].

Структура соединений (I) и (IV) была доказана с помощью УФ- и ЯМР-спектроскопии (ниже приведены химические сдвиги в миллионных долях и КССВ в герцах).

Соединение (I). УФ (H₂O), λ_{max}, нм (ε, М⁻¹ см⁻¹): 240 (10000), 289 (7400), λ_{min} 260 (4100). ¹H-ЯМР (D₂O): 7.71 с (1H, H-6), 6.24 дт (1H, *J* 16, 5.5, =CH-CH₂), 6.15 м (2H, H-1', 5-CH), 4.44 м (2H, CH₂NH (аминопропенил)), 4.25 м и 4.02 м (2H, 2 × CHNH (Bio)), 4.02 м (6H, H-5', H-4', H-3', PCH₂), 3.15 м (1H, CHS (Bio)), 3.03 т (2H, *J* 6.3, CH₂NH), 2.83 дд (1H, *J* 13, 5, SCH₃), 2.61 д (1H, SCH₃), 2.23 м (2H, H-2'), 2.17 т и 2.02 т (4H, *J* 7, 2 × CH₂CO), 1.45 м и 1.22 м (12H, 2 × COCH₂CH₂CH₂CH₂). ³¹P-ЯМР (D₂O): 9.7 д (P_α, J_{P_αP_β} 26), -9.1 д (P_γ, J_{P_γP_β} 20), -21.8 дд (P_β).

Соединение (IV). УФ (H₂O), λ_{max}, нм (ε, М⁻¹ см⁻¹): 240 (10000), 289 (7400), λ_{min} 260 (4100). ¹H-ЯМР (D₂O): 7.92 с (1H, H-6), 6.51 д (1H, *J* 15, 5-CH), 6.36 дт (1H, 6.3, =CH-CH₂), 6.24 дд (1H, *J* 8.2, 6.4, H-1), 4.30 м (1H, H-3'), 3.80 м (2H, H-4', H-5'_a), 3.71 - 3.75 м (5H, H-5'_b, CH₂P), 3.59 д (2H, CH₂N), 2.42 м (2H, H-2'), ³¹P-ЯМР (D₂O): 9.4 д (P_α, J_{P_αP_β} 26), -9.1 д (P_γ, J_{P_γP_β} 20), -21.8 дд (P_β).

По данным Д. Ю. Мозжерина*, соединение (I) является селективным субстратом ДНК-полимераз α и δ из плаценты человека в реакциях синтеза ДНК, катализируемых ими.

Настоящая работа была поддержана грантом № 98-03-32930а Российского фонда фундаментальных исследований.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Jasko M. V., Semizarov D. G., Victorova L. S., Mozzherin D. J., Kravetsky A. A., Kukhanova M. K. // FEBS Lett. 1995. V. 357. P. 23-26.
2. Mozzherin D. J., McConnell M., Jasko M.V., Kravetsky A. A., Tan C.-K., Downey K. M., Fisher P. A. // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 31711-31717.
3. Pishet H., Holy A., Wagner G., Chech D. // Coll. Czech. Chem. Commun. 1975. V. 40. P. 2689-2699.
4. Ясько М. В., Новиков Н. А., Тарусова Н. В. // Био-орган. химия. 1994. Т. 20. С. 50-54.
5. Griffin B. E., Reese C. B. // Tetrahedron Lett. 1964. P. 2925-2931.
6. Langer P. R., Waldrop A. A., Ward D. C. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1981. V. 78. P. 6633-6637.

* Department of Pharmacological Sciences, University Medical Center, State University of New York (частное сообщение).

The Synthesis of a Biotinylated Analogue of 2'-Deoxyuridine 5'-Triphosphate

A. M. Murabuldaev, N. F. Zakirova, and L. A. Alexandrova*

Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences, ul. Vavilova 32, GSP-1 Moscow, 117984 Russia

5-(3-Aminopropen-1-yl)-5'-*O*-(β,γ-diphosphoryl-α-phosphonomethyl)-2'-deoxyuridine and 5-[3-(*N*-biotinyl-6-aminohexanoylamino)propen-1-yl]-5'-*O*-(β,γ-diphosphoryl-α-phosphonomethyl)-2'-deoxyuridine were synthesized and evaluated as potential substrates for DNA polymerases α and δ.

Key words: nucleosides, nucleotides, DNA polymerases

* To whom correspondence should be addressed; phone: +7 (095) 135-6065; fax: +7 (095) 135-1405; e-mail: Chernov@imb.imb.ac.ru.