



УДК 547.963.3:577.113.6.088.53:543.422.25

БЫСТРЫЙ И ЭФФЕКТИВНЫЙ ТВЕРДОФАЗНЫЙ СИНТЕЗ ПОЛИАМИДОВ, СВЯЗЫВАЮЩИХСЯ С ДНК

© 2003 г. А. Н. Сняков*, М. В. Фещенко**, В. А. Рябинин**

*Институт молекулярной биологии ГНЦ ВБ "Вектор",

630559, пос. Кольцово Новосибирской обл.;

**Новосибирский институт биоорганической химии СО РАН, Новосибирск

Поступило в редакцию 03.02.2002 г. Принято к печати 04.02.2002 г.

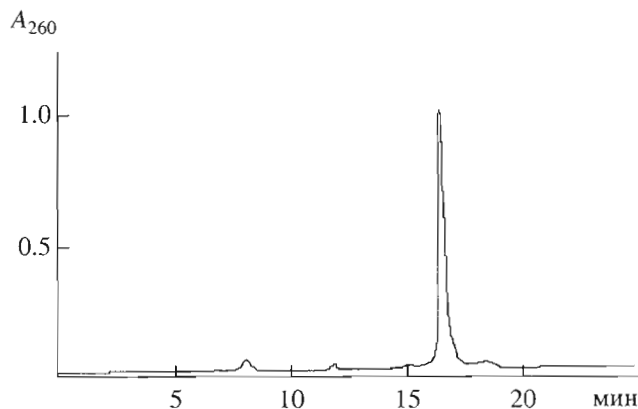
Предложен быстрый и эффективный вариант твердофазного синтеза сиквенспецифичных полиамидов на основе 4-амино-1-метилпиррол-2-карбоновой кислоты, 4-амино-1-метилимидазол-2-карбоновой кислоты, β -аланина и γ -аминомасляной кислоты. В основе метода лежит подход, основанный на использовании двух- и трехзвенных олигокарбоксамидных блоков, что позволяет сократить время синтеза, повысить выход и чистоту продукта и эффективно использовать ручной метод для синтеза протяженных олигокарбоксамидов. Выход лигандов шпилечной структуры, содержащих до 10 звеньев, составляет 35–50% и занимает не более 6 ч.

Ключевые слова: дистамицин; лиганд малой бороздки; сиквенспецифичные полиамиды; твердофазный синтез.

В настоящее время используются различные методы синтеза лигандов малой бороздки на основе *N*-метилпиррола и *N*-метилимидазола. Синтез лигандов в растворе [1–3], в двухфазной жидкой системе [4] и более поздние варианты твердофазного синтеза олигокарбоксамидов [5–7] позволяют получать их с достаточно высокими выходами. Наиболее эффективен твердофазный синтез лигандов, первоначально предложенный группой Дервана [5] и в дальнейшем модифицированный авторами работ [6, 7]. В рамках настоящей работы нами предложен твердофазный метод синтеза олигокарбоксамидов с использованием в качестве мономеров ди- и трикарбоксамидов.

В качестве сиквенспецифичных лигандов наиболее часто используются шпилечные структуры, состоящие из двух четырехзвенных фрагментов, которые содержат имидазольные и пиррольные остатки и остаток β -аланина, соединенные между собой остатком γ -аминомасляной кислоты. Двух- и трехзвенные блоки наиболее удобны в предложенной схеме синтеза, так как позволяют сократить число циклов наращивания цепи в 2–3 раза, используя небольшое число различных по структуре блоков.

Исходные гидроксibenзотриазолиды были получены из соответствующих кислот, синтезированных согласно работе [3]. Все использованные бензотриазолиды стабильны по крайней мере в течение 1 месяца при -10°C . В качестве твердофазного носителя использовался сополимер стирола с дивинилбензолом с иммобилизованным остатком (4-карбониламинометил)бензилового эфира Вос- β -аланина (Вос- β -Pam-NH-CH₂-).



офВЭЖХ неочищенного олигокарбоксамида H- γ -Me-Py-MeIm-MePy-MePy- γ -MePy-MePy-MePy-MePy- β -Dp (детекция при 260 нм). Использовали линейный градиент ацетонитрила (0–70%) в 0.1% TFA в течение 25 мин; скорость элюции 1 мл/мин. Хроматограф 1100 Agilent Technologies, колонка PRP-1, 4 \times 250 мм, размер частиц 10 мкм.

Сокращение: DIEA – *N,N*-диизопропилэтиламин.

Автор для переписки (тел.: (3832) 30-46-53; эл. почта: ryabinin@niboch.nsc.ru).

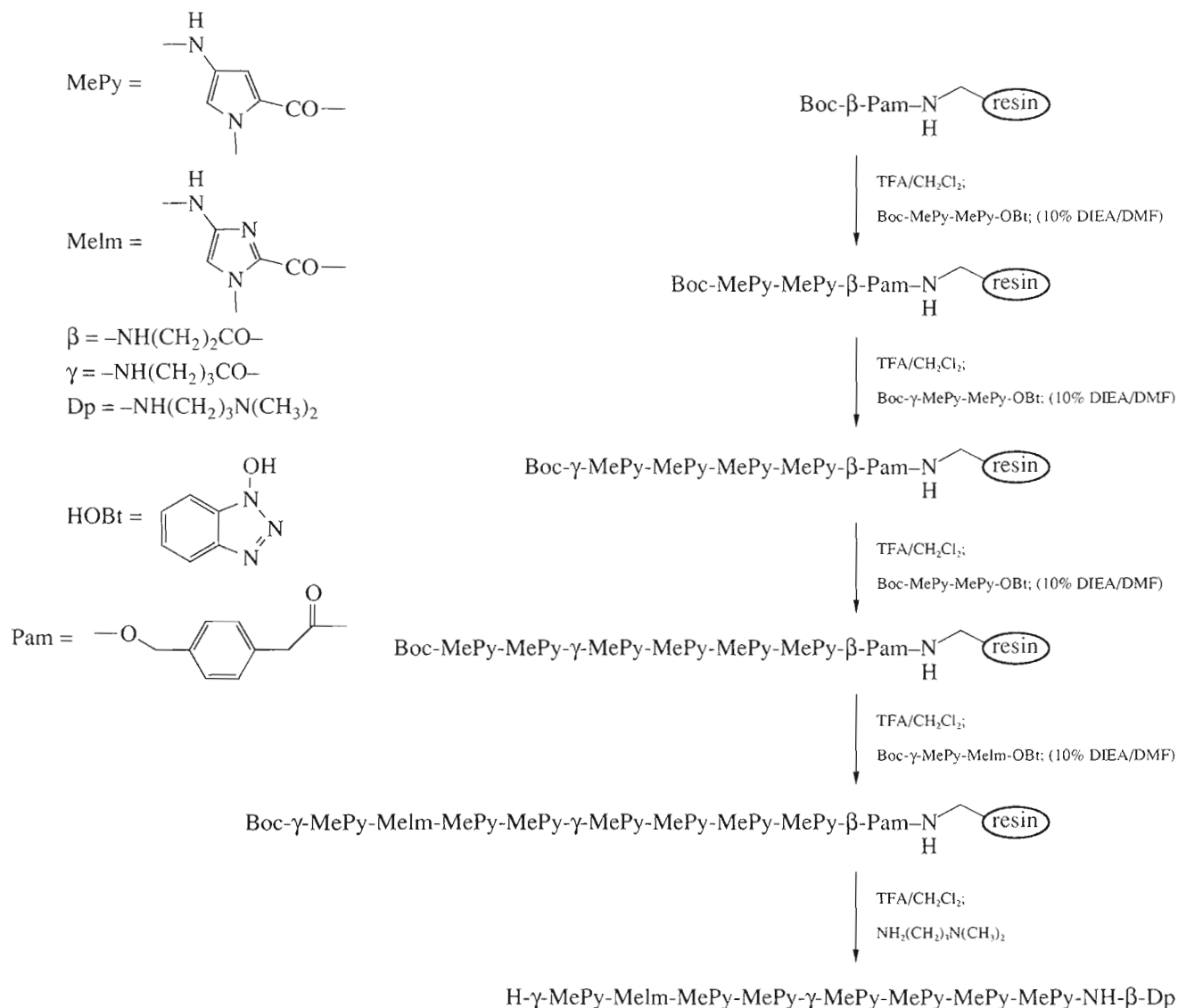


Схема получения олигокарбоксамида H- γ -MePy-Melm-MePy-MePy- γ -MePy-MePy-MePy-MePy- β -Dp.

В качестве примера приведена схема синтеза* шпилечного декакарбоксамида, состоящего из двух тетракарбоксамидных остатков MePy-Melm-MePy-MePy и MePy-MePy-MePy-MePy, соединенных линкером (γ -аминомасляной кислотой, γ). Каждый цикл наращивания цепи включает в себя обработку смесью трифторуксусной кислоты с хлористым метиленом (4 : 1), содержащей 0.4 М тиофенол, в течение 16 мин. Затем проводилась отмывка хлористым метиленом (дважды, 2 мин), DMF (дважды, 2 мин) и 10% DIEA в DMF (дважды, 2 мин). Реакции сочетания проводили в течение 45 мин, используя трехкратный избыток соответствующего бензотриазоли-

* В схеме использована аббревиатура, предложенная группой Дервана [5].

да (0.1 М раствор в 10% DIEA в DMF). Носитель отмывали DMF (дважды, 2 мин), хлористым метиленом (дважды, 2 мин) и смесью трифторуксусной кислоты с CH_2Cl_2 (4 : 1), содержащей 0.4 М тиофенол (2 мин). Стадия кепирования, используемая авторами работы [5], нами не применялась. На последней стадии синтеза, после удаления защитной Boc-группы, носитель обрабатывали 1,1-диметил-1,3-диаминопропаном (Dp-H) при 55°C в течение 14 ч. Раствор отделяли от носителя и вливали в эфир. Выпавший осадок отделяли, промывали эфиром и высушивали.

На рисунке приведена хроматограмма реакционной смеси продукта, полученного по приведенной схеме. Видно, что целевой продукт достаточно чист и отсутствие кепирования не сказывается существенно на его качестве.

Аналогичным образом был получен ряд других лигандов – Н-γ-МеРy-МеРy-МеРy-γ-МеРy-МеРy-МеРy-β-Др, Н-γ-МеРy-МеРy-МеРy-МеРy-γ-МеРy-МеРy-МеРy-МеРy-β-Др, Н-γ-МеРy-МеРy-МеРy-МеРy-β-МеРy-МеРy-МеРy-β-Др. Во всех случаях чистота выделенных продуктов оставалась высокой. Структура полученных соединений была подтверждена ЯМР-спектрами (данные не приведены). Выход полученных олигокарбоксамидов составляет от 35 до 50%. Общее время синтеза – 5–6 ч. Предложенный метод особенно удобен для ручного варианта синтеза и позволяет получать практически чистые олигокарбоксамиды с высокими выходами.

Работа выполнена при финансовой поддержке INTAS (проект № 01-0638), МИД Франции (проект EGIDE 04542ND) и Международного проекта “Конъюгаты модифицированных олигонуклеотидов с лигандами малой бороздки, интеркалятора-

ми и ингибиторами топоизомеразы – стабилизация тройной спирали и направленная модификация двуспиральной ДНК” (проект № 04.70043-69).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Grehn L., Ragnarsson U. // *J. Org. Chem.* 1981. V. 46. P. 3492–3497.
2. Vazquez E., Caamano A.M., Castedo L., Mascareñas J.L. // *Tetrahedron Lett.* 1999. V. 40. P. 3621–3624.
3. Рябинин В.А., Синяков А.Н. // *Биоорган. химия.* 1998. Т. 24. С. 601–607.
4. König B., Rodel M. // *Chem. Comm.* 1998. P. 605–606.
5. Baird E.E., Dervan P.B. // *J. Am. Chem. Soc.* 1996. V. 118. P. 6141–6146.
6. Wurtz N.R., Turner J.M., Baird E.E., Dervan P.B. // *Org. Lett.* 2001. Т. 3. P. 2101–2103.
7. Krutzik P.O., Chamberlin R. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002. V. 12. P. 2129–2132.

A Rapid and Effective Solid-Phase Synthesis of DNA-Sequence-Specific Polyamides

A. N. Sinyakov*, M. V. Feshchenko**, and V. A. Ryabinin**

Phone: (3832) 30-4653; e-mail: ryabinin@niboch.nsc.ru

* Institute of Molecular Biology, Vector State Research Center of Virology and Biotechnology, Kol'tsovo, Novosibirsk oblast, 630559 Russia

** Novosibirsk Institute of Bioorganic Chemistry, Siberian Division, Russian Academy of Sciences, pr. Akademika Lavrent'eva 8, Novosibirsk, 630090 Russia

A rapid and effective variant of solid-phase synthesis of DNA-sequence-specific polyamides on the basis of 4-amino-1-methylpyrrole-2-carboxylic acid, 4-amino-1-methylimidazole-2-carboxylic acid, β-alanine, and γ-aminobutyric acid was suggested. It is based on the use of di- and trimeric oligocarboxamide building blocks, which help reduce the time of synthesis, increase its yield and purity of products, and efficiently use manual synthesis for the synthesis of long oligocarboxamides. The yields of hairpin ligands with up to 10 units are 35–50% and the synthesis takes no more than 6 h. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2003, vol. 29, no. 4; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: distamycin, minor groove binder, sequence-specific polyamides, solid-phase synthesis