



УДК 547.963.3:577.113.6.088.53:543.422.25

## ЖИДКОФАЗНЫЙ МЕТОД СИНТЕЗА ПОЛИАМИДОВ, СВЯЗЫВАЮЩИХСЯ С ДНК, С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ ОЛИГОКАРБОКСАМИДНЫХ БЛОКОВ

© 2004 г. А. Н. Сняжков\*, 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 13.08.2003 г. Принято к печати 18.08.2003 г.

Предложен жидкофазный метод синтеза сиквенспецифичных полиамидов на основе 4-амино-1-метилпиррол-2-карбоновой кислоты, 4-амино-1-метилимидазол-2-карбоновой кислоты,  $\beta$ -аланина и  $\gamma$ -аминомасляной кислоты с использованием в качестве мономеров двух- и трехзвенных олигокарбоксамидных блоков. Данная схема синтеза использована для получения лигандов малой бороздки ДНК, содержащих до 12 карбоксамидных звеньев.

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

Полиамиды на основе *N*-метилпиррола и *N*-метилимидазола, аналогичные по структуре природным соединениям – нетропсину и дистамицину, вызывают большой интерес в связи с возможностью создания продуктов, связывающихся с ДНК в малой бороздке сиквенспецифичным образом (см., например, [1]). В настоящее время наиболее эффективен твердофазный метод их синтеза [2–5]. Жидкофазный способ синтеза [6–8] позволяет получать большие по сравнению с твердофазным методом количества лиганда, но характеризуется большой продолжительностью синтеза и необходимостью проведения хроматографической очистки промежуточных олигокарбоксамидов. Недавно нами был предложен быстрый и эффективный вариант твердофазного синтеза полиамидов с использованием в качестве мономеров ди- и трикарбоксамидов [5], позволяющий сократить время синтеза, повысить выходы и чистоту продукта. Однако во всех вариантах твердофазного метода необходимо использовать достаточно большие избытки активированного компонента (не менее трех эквивалентов) для достижения высоких выходов на каждом цикле наращивания олигокарбоксамидной цепи. Применяемая методика снятия полученного олигокарбоксамидного носителя с использованием 1,1-диметил-1,3-диаминопропана не позволяет проводить дальнейшую модификацию лиганда по *C*-концу, а щелочная постсинтетическая обработка носителя дает лиганд в виде карбоновой кислоты с низким выхо-

дом. Кроме того, обычно используемый в твердофазном синтезе носитель с иммобилизованным  $\text{Wsc-}\beta$ -аланин-(4-карбониламинометил)бензиловым эфиром [2–5] детерминирует структуру лиганда – на *C*-конце молекулы обязательно присутствует остаток  $\beta$ -аланина.

В настоящей работе нами рассмотрен жидкофазный метод синтеза олигокарбоксамидов с использованием в качестве мономеров ди- и трикарбоксамидов. Как и в работе [5], нами был проведен синтез шпильчатых лигандов, состоящих из двух-, четырех- или пятизвенных фрагментов, содержащих имидазольные, пиррольные остатки и остаток  $\beta$ -аланина, соединенные между собой остатком  $\gamma$ -аминомасляной кислоты. В качестве мономеров нами, в основном, использовались двух- и трехзвенные блоки. Подбор блоков осуществлялся таким образом, чтобы не вводить гидроксibenзотриазолид пирролкарбоновой кислоты в реакцию с аминогруппой имидазольного остатка, скорость сочетания которых недостаточно высока. В реакцию наращивания олигокарбоксамидной цепи вводились либо заранее приготовленные гидроксibenзотриазолиды, либо полученные в процессе синтеза [5].

В качестве примера приведена схема синтеза шпильчатого олигокарбоксамидного, состоящего из двух пентакарбоксамидных остатков, соединенных линкером ( $\gamma$ -аминомасляной кислотой). Исходным мономером служит трикарбоксамид, содержащий аминогруппу, который обрабатывают соответствующим гидроксibenзотриазолидом в DMF (1.2-кратный избыток) в присутствии 4 экв.

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

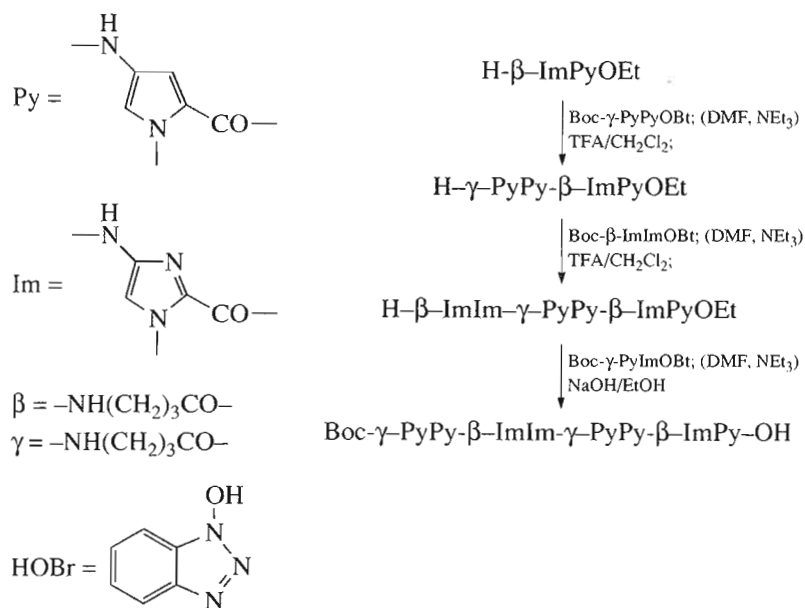


Схема получения олигокарбоксамида  $\text{Boc-}\gamma\text{-PyPy-}\beta\text{-ImIm-}\gamma\text{-PyPy-}\beta\text{-ImPy-OH}$ .

триэтиламина в течение 2–5 ч при комнатной температуре (контроль ТСХ). К реакционной смеси добавляют воду, осадок отделяют и высушивают. Реакционную массу растворяют в хлороформе, наносят на колонку с силикагелем, промывают хлороформом, 5% EtOH в  $\text{CHCl}_3$  (удаляя избыток гидроксibenзотриазолида и дициклогексилмочевину). Целевой продукт элюируют, в зависимости от длины олигокарбоксамида, 10–20% EtOH в  $\text{CHCl}_3$ . Элюат упаривают и удаляют защитную Boc-группу обработкой смесью  $\text{TFA-CH}_2\text{Cl}_2$  (1 : 2) в течение 30–40 мин. Полученный амин высаживают эфиром, отфильтровывают и сушат. Цикл наращивания цепи повторяют необходимое число раз. После пришивки последнего звена Boc-группу не удаляют, а этиловый эфир превращают в соответствующую кислоту обработкой водно-спиртовым раствором щелочи согласно работе [8]. Для получения олигокарбоксамида в вышеприведенном случае было проведено три цикла наращивания вместо 12 с использованием традиционного подхода.

По предложенной схеме был синтезирован ряд других лигандов:  $\text{Boc-}\gamma\text{-PyPy-}\beta\text{-PyIm-}\gamma\text{-PyPy-}\beta\text{-PyPy-OH}$ ,  $\text{Boc-}\gamma\text{-PyPyPy-}\gamma\text{-PyPyPy-OH}$ ,  $\text{Boc-}\gamma\text{-PyImImPy-}\gamma\text{-PyPyPyPy-OH}$ ,  $\text{Boc-}\gamma\text{-ImPy-}\beta\text{-ImIm-}\gamma\text{-PyPy-}\beta\text{-ImPy-OH}$ ,  $\text{Boc-}\gamma\text{-PyPyImIm-}\gamma\text{-PyPyPyIm-OH}$ ,  $\text{Boc-}\gamma\text{-PyPyPyIm-}\gamma\text{-PyPyPyPy-OH}$ , которые были использованы для получения производных с различными заместителями на C-конце молекулы. В частности, при обработке  $\text{Boc-}\gamma\text{-PyPy-}\beta\text{-ImIm-}\gamma\text{-PyPy-}\beta\text{-ImPy-OBt}$  1,1-диметил-1,3-диаминопропаном с последующим удалением Boc-группы

был получен  $\text{H-}\gamma\text{-ImPy-}\beta\text{-ImIm-}\gamma\text{-PyPy-}\beta\text{-PyIm-NH}(\text{CH}_2)_3\text{N}(\text{CH}_3)_2$  (см. схему). Выход на цикл наращивания цепи составляет 40–75%, общий выход от 25 до 45%. Рассмотренный метод позволяет получать достаточно большие количества продукта (например, нами было синтезировано около 1 г лиганда  $\text{Boc-}\gamma\text{-PyPyPy-}\gamma\text{-PyPyPy-OH}$ ). Структура полученных соединений была подтверждена ЯМР-спектрами и масс-спектрометрией (данные не приведены).

Работа выполнена при финансовой поддержке INTAS (проект № 01-0638), Международного проекта “Конъюгаты модифицированных олигонуклеотидов с лигандами малой бороздки, интеркаляторами и ингибиторами топоизомеразы – стабилизация тройной спирали и направленная модификация двуспиральной ДНК” (проект № 04.70043–69) и Министерства иностранных дел Франции (проект EGIDE 04542ND). Авторы благодарны Ж.-П. Бруару и Л. Дюбосту (Laboratoire de Chimie, Museum National d’Histoire Naturelle, Paris) за регистрацию масс-спектров MALDI-TOF.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Dervan P.B., Edelson B.S. // *Curr. Opin. Struct. Biol.* 2003. V. 13. P. 284–299.
2. Baird E.E., Dervan P.B. // *J. Am. Chem. Soc.* 1996. V. 118. P. 6141–6146.
3. Wurtz N.R., Turner J.M., Baird E.E., Dervan P.B. // *Org. Lett.* 2001. V. 3. P. 2101–2103.
4. Krutzik P.O., Chamberlin R. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2002. V. 12. P. 2129–2132.

5. Сinyaков А.Н., Фещенко М.В., Рябинин В.А. // Биоорган. химия. 2003. Т. 29. С. 449–451.
6. Grehn L., Ragnarsson U. // J. Org. Chem. 1981. V. 46. P. 3492–3497.
7. Vazquez E., Caamano A.M., Castedo L., Mascareñas J.L. // Tetrahedron Lett. 1999. V. 40. P. 3621–3624.
8. Рябинин В.А., Сinyaков А.Н. // Биоорган. химия. 1998. Т. 24. С. 601–607.

## A Liquid-Phase Synthesis of DNA-Binding Polyamides Using Oligocarboxamide Blocks

A. N. Sinyakov\*, M. V. Feshchenko\*\*, and V. A. Ryabinin\*<sup>#</sup>

<sup>#</sup>Phone: (3832) 30-4653; e-mail: ryabinin@niboch.nsc.ru

\*Institute of Molecular Biology, Vector State Research Center of Virology and Biotechnology, pos. Kol'tsovo, Novosibirskaya oblast, 630559 Russia

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

A method was developed for the synthesis of sequence-specific polyamides on the basis of 4-amino-1-methylpyrrole-2-carboxylic acid, 4-amino-1-methylimidazole-2-carboxylic acid,  $\beta$ -alanine, and  $\gamma$ -aminobutyric acid. Dimeric and trimeric oligocarboxamides were used as building blocks. Our synthetic scheme was applied for the synthesis of DNA minor groove binders containing up to twelve carboxamide units. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2004, vol. 30, no. 1; see also <http://www.maik.ru>.

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

Сдано в набор 02.10.2003 г.

Подписано к печати 01.12.2003 г.

Формат бумаги 60 × 88<sup>1</sup>/<sub>8</sub>

Офсетная печать

Усл. печ. л. 14.0

Усл. кр.-отт. 3.6 тыс.

Уч.-изд. л. 14.0

Бум. л. 7.0

Тираж 254 экз.

Зак. 7896

Свидетельство о регистрации № 0110214 от 08.02.93 г. в Министерстве печати и информации Российской Федерации

Учредители: Российская академия наук,

Институт биоорганической химии им. М.М. Шемякина и Ю.А. Овчинникова

Адрес издателя: 117997, Москва, Профсоюзная ул., 90

Отпечатано в ППП "Типография "Наука", 121099, Москва, Шубинский пер., 6