



УДК 577.113.4

РЕАКЦИОННОСПОСОБНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ ОЛИГОНУКЛЕОТИДОВ,
СОДЕРЖАЩИХ МЕТИЛФОСФОНАТНЫЕ ГРУППЫ
IV*. СТАБИЛИЗАЦИЯ КОМПЛЕМЕНТАРНЫХ КОМПЛЕКСОВ
МЕТИЛФОСФОНАТНЫХ АНАЛОГОВ ОКТАТИМИДИЛАТА
С ПОМОЩЬЮ ОСТАТКА N-(2-ГИДРОКСИЭТИЛ)ФЕНАЗИНИИ

Амиржанов Н. В., Зарытова В. Ф., Левина А. С.,
Лохов С. Г.

Новосибирский институт биоорганической химии Сибирского отделения
Академии наук СССР

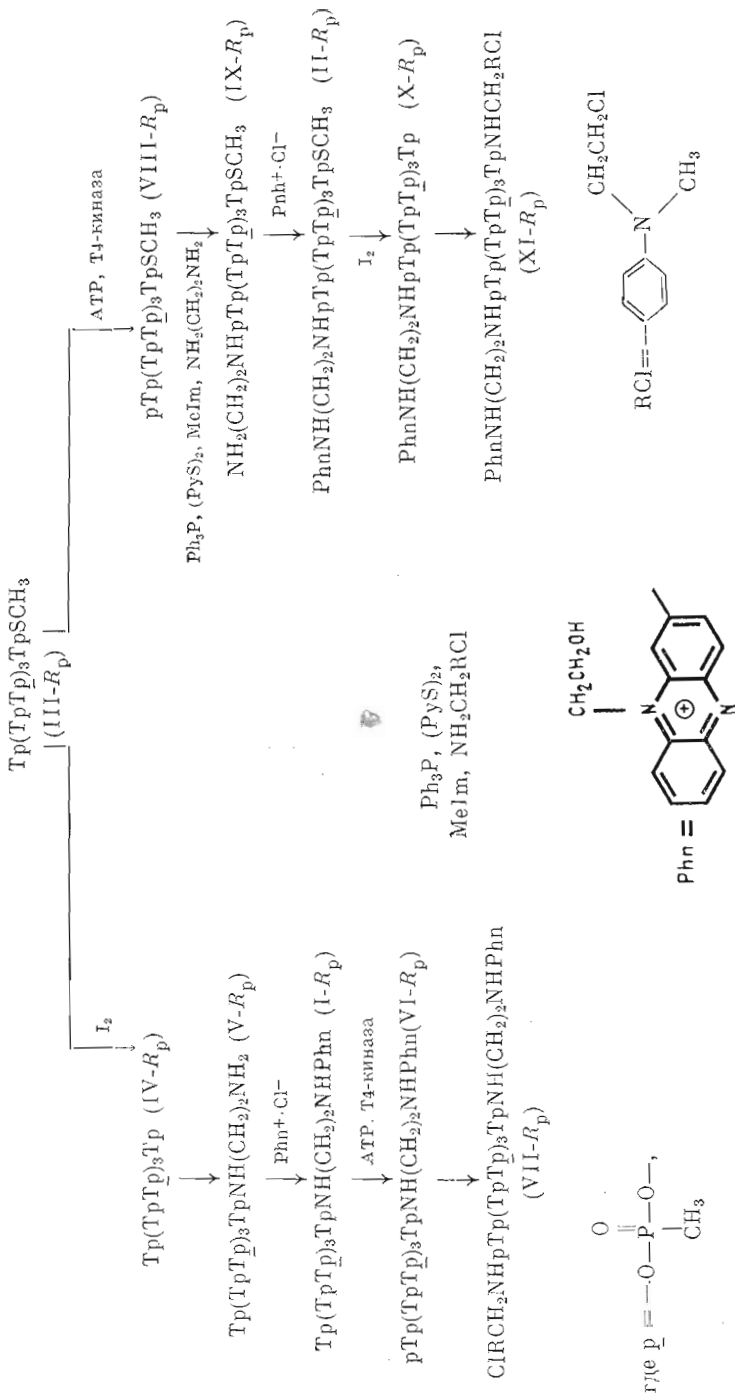
Для стабилизации комплементарных комплексов, образованных с участием метилфосфонатных аналогов олигонуклеотидов (МФАО), предлагается использовать полиароматические группы, ковалентно связанные с концевым фосфатом МФАО. В виде индивидуальных R_p - и S_p -диастереомеров получены производные метилфосфонатных аналогов октатимидилата, содержащие остаток N-(2-гидроксиэтил)феназиния (Phn) на 3'-конце — $\text{Tr}(\text{TrTr})_3\text{TrNH}(\text{CH}_2)_2\text{NH-Phn}$ (I- R_p и I- S_p) и на 5'-конце — $\text{Phn-NH}(\text{CH}_2)_2\text{NHTr}(\text{TrTr})_3\text{TrSCH}_3$ (II- R_p и II- S_p). Показано, что все полученные феназинсодержащие производные образуют более прочные комплементарные комплексы с октадекадезоксирибонуклеотидом $\text{C}_5\text{A}_8\text{C}_5$ по сравнению с октатимидилатными производными $\text{Tr}(\text{TrTr})_3\text{TrSCH}_3$ (III- R_p ; III- S_p), не содержащими остатков Phn; температуры плавления для комплексов, содержащих (II- R_p), выше на 18° С, (I- R_p) — на 10° С, (II- S_p) и (I- S_p) — более чем на 12 и на 3° С соответственно. Полученные 3'- и 5'-Phn-производные МФАО (I- R_p/S_p) и (II- R_p/S_p) использованы для синтеза соответствующих 5'- и 3'-алкилирующих производных, несущих остатки 4-(N-метил-N-2-хлорэтиламино)бензиламина.

Метилфосфонатные аналоги олигонуклеотидов (МФАО) в силу повышенной способности проникать через клеточные мембраны и стабильности к клеточным нуклеазам [4] представляют большой интерес как ингибиторы экспрессии генов. Однако использованию таких соединений серьезно препятствует то, что они существуют в виде смеси диастереомеров, способных образовывать с участием НК-мишени дуплексы разпой, в том числе низкой, стабильности [3, 5, 6]. Снижение способности олигонуклеотидов к комплексообразованию влечет за собой снижение степени их воздействия на НК-мишень. Так, изомер с S_p -конфигурацией метилфосфонатных групп октатимидилата образует дуплекс с комплементарным олигонуклеотидом $\text{C}_5\text{A}_8\text{C}_5$ преимущественно при температуре <3° С [3]. Алкилирующие производные, полученные на его основе, модифицируют НК-мишень в гораздо меньшей степени, чем реагенты на основе R_p -изомера или фосфодиэфирного олигонуклеотида [1].

Очевидно, что для новышения эффективности воздействия на НК-мишень необходимо использовать аналоги олигонуклеотидов, способные образовывать стабильные комплементарные комплексы, например R_p -изомеры метилфосфонатов. Для этого требуется специальное достаточно трудоемкое разделение смеси изомеров МФАО.

* Сообщение III см. [1]. Сокращения: НК — нуклеиновая кислота, МФАО — метилфосфонатные аналоги олигонуклеотидов, MeIm — N-метилимидазол, Py — пиридин, $(\text{PyS})_2$ — 2,2'-дипиридилдисульфид, Ph_3P — трифенилфосфин, Phn — остаток N-(2-гидроксиэтил)феназиний-2-ила, CH_2RCl — 4-(N-метил-N-2-хлорэтиламино)бензил, p — метилфосфонатный остаток в нуклеотидах. Римские цифры со значком « R_p » и « S_p » соответствуют производным индивидуальных диастереомеров МФАО, имеющих R_p - и S_p -абсолютные конфигурации заместителей при метилфосфонатном атоме фосфора [2, 3]; римские цифры со значком «a» соответствуют фосфодиэфирным производным октатимидилатов. В работе использованы олигонуклеотиды только дезоксирида; префикс «d» перед названием олигонуклеотидов и их производных опущен.

Схема



В данной работе стабильность комплементарных комплексов предложено повышать путем введения в МФАО полиароматических остатков. Ранее подобная стабилизация дуплексов, образованных с участием обычных фосфодиэфирных олигонуклеотидов, была осуществлена с помощью ковалентного присоединения к олигонуклеотиду остатка акридина [7, 8] и N-(2-гидроксиэтил)феназиния (Phn) [9, 10]. Влияние полиароматических остатков в составе МФАО на способность их к комплексообразованию, а также в составе алкилирующих производных МФАО на их алкилирующие свойства не исследовано.

Цель настоящей работы — синтез и изучение комплексообразующих свойств R_p - и S_p -изомеров метилфосфонатных аналогов октатимидилата, содержащих на 3'- или 5'-конце остаток N-(2-гидроксиэтил)феназиний-2-ила, превращение синтезированных соединений в алкилирующие производные, несущие на 5'- или 3'-конце остаток 4-(N-метил-N-2-хлорэтил-амино)бензиламина (CIRCH₂NH-).

Были получены производные индивидуальных R_p - и S_p -изомеров октатимидилатов $\text{Tp}(\text{TpTp})_3\text{TpNH}(\text{CH}_2)_2\text{NH-Phn}$ (I- R_p) и (I- S_p), $\text{Phn-NH}(\text{CH}_2)_2\text{NHpTp}(\text{TpTp})_3\text{Tp-SCH}_3$ (II- R_p) и (II- S_p), содержащие остатки Phn на 3'- и 5'-концах последовательности соответственно. Исходными для получения этих соединений явились R_p - и S_p -изомеры метилфосфонатных аналогов октатимидилата $\text{Tp}(\text{TpTp})_3\text{TpSCH}_3$ (III- R_p) и (III- S_p). В качестве контрольных были использованы не содержащие метилфосфонатных групп последовательности $(\text{Tp})_7\text{TpNH}(\text{CH}_2)_2\text{NH-Phn}$ (Ia), $\text{Phn-NH}(\text{CH}_2)_2\text{NHp}(\text{Tp})_7\text{Tp-SCH}_3$ (IIa), синтезированные на основе октатимидилата $(\text{Tp})_7\text{Tp-SCH}_3$ (IIIa).

Таблица I

Хроматографические характеристики октатимидилатных производных: процентное содержание ацетонитрила в элюенте в момент выхода вещества и время удержания на колонке (T, мин)

| Октатимидилаты | А * | | Б * | | |
|---|-----------------------|--------|-----------------------|--------|------|
| | CH ₃ CN, % | T, мин | CH ₃ CN, % | T, мин | |
| $\text{Tp}(\text{TpTp})_3\text{TpSCH}_3$ | (III- R_p) | 22,3 | 13,4 | 18,1 | 18,1 |
| $\text{Tp}(\text{TpTp})_3\text{TpSCH}_3$ | (III- S_p) | 23,0 | 13,8 | 18,8 | 18,8 |
| $(\text{Tp})_7\text{TpSCH}_3$ | (IIIa) | 11,4 | 6,8 | 14,8 | 14,8 |
| $\text{Tp}(\text{TpTp})_3\text{Tp}$ | (IV- R_p) | 21,3 | 12,8 | — | — |
| $\text{Tp}(\text{TpTp})_3\text{Tp}$ | (IV- S_p) | 22,0 | 13,2 | — | — |
| $(\text{Tp})_7\text{Tp}$ | (IVa) | 17,8 | 10,7 | — | — |
| $\text{pTp}(\text{TpTp})_3\text{TpSCH}_3$ | (VIII- R_p) | 19,6 | 11,8 | — | — |
| $\text{pTp}(\text{TpTp})_3\text{TpSCH}_3$ | (VIII- S_p) | 20,7 | 12,4 | — | — |
| $\text{p}(\text{Tp})_7\text{TpSCH}_3$ | (VIIIa) | 17,2 | 10,3 | — | — |
| $\text{PhnNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHpTp}(\text{TpTp})_3\text{TpSCH}_3$ | (II- R_p) | 23,4 | 14,0 | 19,6 | 19,6 |
| $\text{PhnNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHpTp}(\text{TpTp})_3\text{TpSCH}_3$ | (II- S_p) | 24,2 | 14,5 | 20,4 | 20,4 |
| $\text{PhnNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHp}(\text{Tp})_7\text{TpSCH}_3$ | (IIa) | 20,4 | 12,2 | 16,8 | 16,8 |
| $\text{Tp}(\text{TpTp})_3\text{TpNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHPhn}$ | (I- R_p) | 25,2 | 15,1 | 21,0 | 21,0 |
| $\text{Tp}(\text{TpTp})_3\text{TpNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHPhn}$ | (I- S_p) | 25,7 | 15,4 | 21,7 | 21,7 |
| $(\text{Tp})_7\text{TpNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHPhn}$ | (Ia) | 21,7 | 12,7 | 17,4 | 17,4 |
| $\text{PhnNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHpTp}(\text{TpTp})_3\text{Tp}$ | (X- R_p) | 23,8 | 14,3 | 19,0 | 19,0 |
| $\text{PhnNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHpTp}(\text{TpTp})_3\text{Tp}$ | (X- S_p) | 24,0 | 14,4 | 19,6 | 19,6 |
| $\text{PhnNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHp}(\text{Tp})_7\text{Tp}$ | (Xa) | 20,2 | 12,1 | 16,0 | 16,0 |
| $\text{pTp}(\text{TpTp})_3\text{TpNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHPhn}$ | (VI- R_p) | 24,8 | 14,9 | 19,7 | 19,7 |
| $\text{pTp}(\text{TpTp})_3\text{TpNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHPhn}$ | (VI- S_p) | 25,1 | 13,1 | 20,6 | 20,6 |
| $\text{p}(\text{Tp})_7\text{TpNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHPhn}$ | (VIa) | 20,8 | 12,5 | 16,3 | 16,3 |
| $\text{PhnNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHpTp}(\text{TpTp})_3\text{TpNHCH}_2\text{RCl}$ | (XI- R_p) | 28,0 | 16,8 | — | — |
| $\text{PhnNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHpTp}(\text{TpTp})_3\text{TpNHCH}_2\text{RCl}$ | (XI- S_p) | 28,8 | 17,3 | — | — |
| $\text{PhnNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHp}(\text{Tp})_7\text{TpNHCH}_2\text{RCl}$ | (XIa) | 23,7 | 14,2 | — | — |
| $\text{CIRCH}_2\text{NHpTp}(\text{TpTp})_3\text{TpNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHPhn}$ | (VII- R_p) | 28,3 | 17,0 | — | — |
| $\text{CIRCH}_2\text{NHpTp}(\text{TpTp})_3\text{TpNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHPhn}$ | (VII- S_p) | 29,1 | 17,5 | — | — |
| $\text{CIRCH}_2\text{NHp}(\text{Tp})_7\text{TpNH}(\text{CH}_2)_2\text{NHPhn}$ | (VIIa) | 24,5 | 14,7 | — | — |

* Обращенно-фазовая хроматография проводилась в условиях А (см. подписи к рис. 1 и 5) и Б (см. подписи к рис. 2).

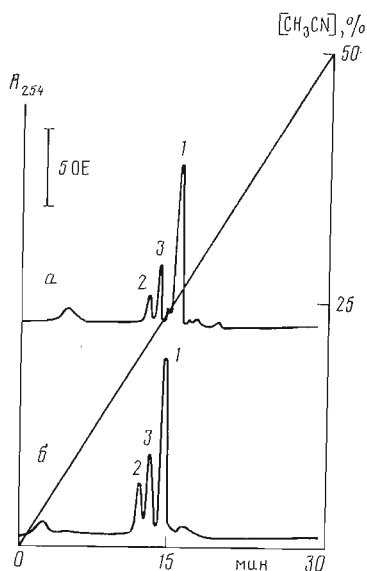


Рис. 1

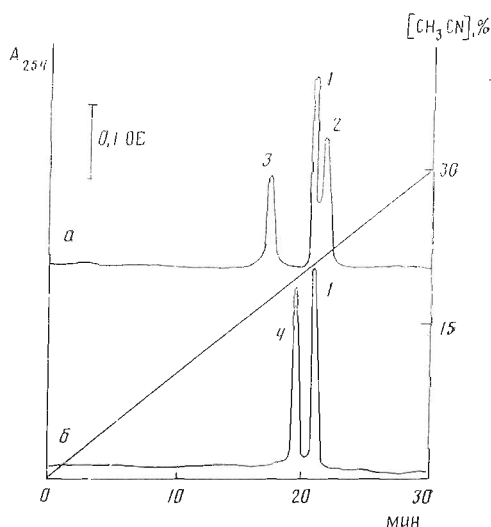


Рис. 2

Рис. 1. Обращенно-фазовая хроматография реакционной смеси, полученной при синтезе 3'-Phn-октатимидилатного производного (I- R_p) (а, 1), 5'-Phn-октатимидилатного производного (II- R_p) (б, 1). 2 - исходные октатимидилаты (IV- R_p) и (VIII- R_p) соответственно; 3 - промежуточные октатимидилатные производные (V- R_p) и (IX- R_p) соответственно. Колонка (4×250 мм) с носителем Lichrosorb RP-18, 10 мкм, градиент - 0→50% ацетонитрила в 0,05 M LiClO₄.

Рис. 2. Обращенно-фазовая хроматография искусственных смесей октатимидилатов: а - (I- R_p) - 1, (I- S_p) - 2, (Iа) - 3; б - (I- R_p) - 1, (II- R_p) - 4. Условия - см. рис. 1, градиент 0→30% ацетонитрила

Синтез производных МФАО из R_p -изомерного октатимидилата (III- R_p) представлен на схеме. По аналогичной схеме были получены также производные S_p -изомеров метилфосфонатного и фосфодизфирного аналогов октатимидилата исходя из соответствующих соединений (III- S_p) и (IIIа) (табл. 1). Для деблокирования 3'-концевого фосфата октатимидилаты типа (III)-(III- R_p), (III- S_p) и (IIIа) обрабатывали раствором пода [3]. Для введения 5'-фосфата в олигонуклеотиды типа (III) последние подвергали кинированию в присутствии АТР и полинуклеотидкиназы [3]. Далее после активации 3'- или 5'-концевой фосфатной группы соединений типа (IV) или (VIII) соответственно (см. схему и табл. 1) с помощью смеси трифенилфосфина, 2,2'-дипиридилсульфида в присутствии N-метylimидзола [11] реакционную смесь обрабатывали этилендиамином [9] и получали соответствующие фосфамиды октатимидилатов типа (V) и (IX). Наличие алифатических аминогрупп в олигонуклеотиде позволяло далее легко вводить остаток N-(2-гидроксиэтил)феназиния [9]. Полученные 3'- и 5'-N-(2-гидроксиэтил)феназиниевые производные выделяли обращенно-фазовой хроматографией. Типичная картина хроматографического выделения на примере соединений (I- R_p) и (II- R_p) представлена на рис. 1, а, б. Выходы конечных продуктов составляли 65-85%. Все полученные 3'- и 5'-Phn-производные (I) и (II) были охарактеризованы данными обращенно-фазовой хроматографии (рис. 1 и 2, табл. 1) и электронными спектрами поглощения (например, рис. 3, 4).

Наличие гидрофобного Phn-остатка в полученных соединениях (I) и (II), как и следовало ожидать, приводит к увеличению времени удерживания при обращенно-фазовой хроматографии этих соединений по сравнению с временем удерживания исходных производных (III) (табл. 1, рис. 1). Во всех случаях изомер с R_p -конфигурацией метилфосфонатного фрагмента имеет меньшее время удерживания, чем S_p -изомер (рис. 2а, табл. 1). Аналогичные закономерности при обращенно-фазовой хромато-

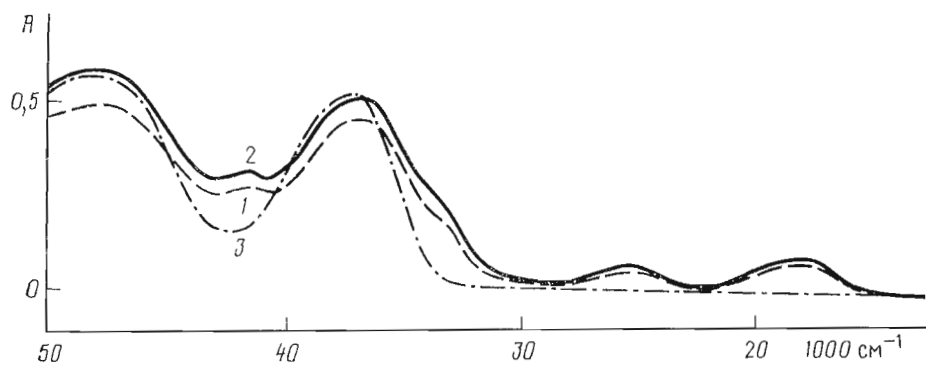


Рис. 3

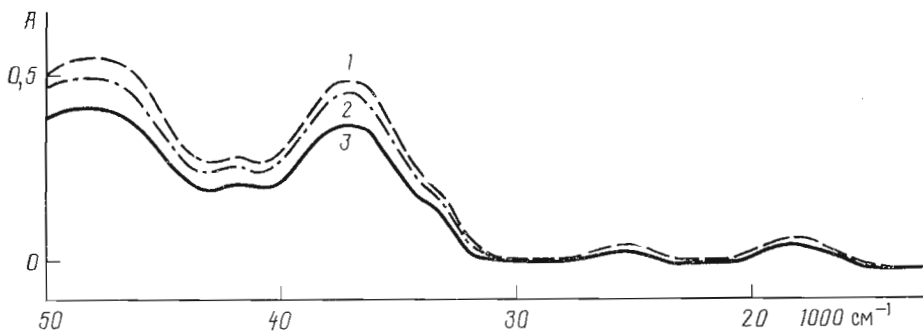


Рис. 4

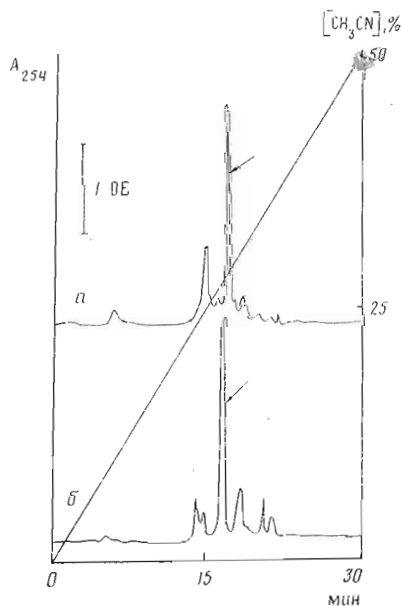


Рис. 5

Рис. 3. Электронные спектры поглощения соединений (I- R_p) (1), (II- R_p) (2), (III- R_p) (3) в воде

Рис. 4. Электронные спектры поглощения соединений (II- R_p) (1), (II- S_p) (2), (IIIa) (3) в воде

Рис. 5. Обращенно-фазовая хроматография реакционной смеси, полученной при синтезе октатимидилатных производных (VII- R_p) (а) и (XI- R_p) (б). Стрелкой отмечены пики целевых соединений. Условия хроматографии приведены в подписи к рис. 1

графии R_p - и S_p -изомеров МФЛО были получены ранее в работе [12]. Было выявлено также, что октатимидилатные производные типа (II), содержащие на 5'-конце Phn-остаток, а на 3'-конце $pSCH_3$ -группировку, имеют большее время удерживания при обращенно-фазовой хроматографии, чем аналогичные октатимидилатные производные типа (I), содержащие на 3'-конце остаток Phn (рис. 2б, табл. 1).

В УФ-области спектра в случае производных октатимидилатов типа (I) и (II), содержащих остатки Phn на 3'- или 5'-конце, по сравнению со спектрами исходных соединений типа (III), не содержащих остатков

Температуры плавления и некоторые термодинамические характеристики
комплементарных комплексов 5'- и 3'-P_hn-производных октатимидилата
с олигонуклеотидом C₅A₈C₅
Условия даны в «Экспериментальной части»

| Октатимиди- латы | T _{пл} , °C | ΔH°*, ккал/моль | ΔS°*, кал/(моль·K) | ΔG _{25°} °C | ΔG _{37°} °C |
|-----------------------|----------------------|--------------------|-----------------------|----------------------|----------------------|
| | | | | ккал/моль | |
| (I-R _p) | 30 | -58 | -168 | -7,81 | -5,80 |
| (II-R _p) | 38 | -60 | -171 | -9,36 | -7,31 |
| (III-R _p) | 20** | — | — | — | — |
| (I-S _p) | 6 | -55 | -173 | -3,14 | -1,07 |
| (II-S _p) | 15 | -49 | -147 | -5,27 | -3,51 |
| (III-S _p) | <3** | — | — | — | — |
| (Ia) | 24 | -57 | -164 | -6,79 | -4,82 |
| (IIa) | 33 | -54 | -155 | -8,39 | -6,53 |
| (IIIa) | 15** | — | — | — | — |

* Ошибка определения ΔH° и ΔS° не более ±2%, ΔG — ±0,01 ккал/моль.

** Значения T_{пл} для соединений (III), не содержащих остатка P_hn, получены ранее [3].

P_hn, наблюдается смещение максимума поглощения с 266 до 269 нм. Появляются характерные для остатка 2-[(6-аминогексил-1)амино]-10-(2-гидроксиэтил)феназиния [9] максимумы поглощения в области 240, 299 (плечо), 396 и 554 нм (рис. 3 и 4).

Сумма представленных данных согласуется со структурой полученных производных октатимидилатов (I) и (II), содержащих остатки P_hn.

Важная характеристика производных (I) и (II), содержащих P_hn-остатки, — прочность образуемых ими комплементарных комплексов. Для соединений типа (I) и (II) в комплексе с комплементарным октадекадезоксирибонуклеотидом C₅A₈C₅ были получены оптические кривые плавления, по которым рассчитаны термодинамические параметры комплексообразования (табл. 2). Температуры плавления свидетельствуют, что все полученные P_hn-содержащие производные образуют более прочные комплементарные комплексы по сравнению с октатимидилатными производными типа (III), не содержащими остатков P_hn. Например, температуры плавления комплексов выше для случая (II-R_p) и (IIa) на 18° C, для (I-R_p) и (Ia) на 10 и 9 и для (II-S_p) и (I-S_p) более чем на 12 и 3° C соответственно.

Примечательно, что МФАО, содержащие остаток P_hn на 5'-конце, образуют более прочные комплементарные комплексы по сравнению с аналогичными производными, содержащими остаток P_hn на 3'-конце. Подобная закономерность наблюдается и для фосфодиэфирных производных (IIa) и (Ia), а также для фосфодиэфирных производных с гетерогенной последовательностью [9].

Помимо разницы в температуре плавления наблюдается разница и в свободной энергии образования соответствующих комплексов, в состав которых входят 3'- и 5'-P_hn-содержащие олигонуклеотиды. Согласно этим данным, разница в ΔG° для соединений (II-R_p) и (I-R_p) составляет 1,55 и 1,51, для (II-S_p) и (I-S_p) — 2,13 и 2,40, для (IIa) и (Ia) — 1,66 и 1,71 ккал·моль⁻¹ при 25 и 37° C соответственно.

Таким образом, введение полиароматического остатка N-(2-гидроксиэтил)феназиния как по 3'-, так и по 5'-концам МФАО (в случае как R_p-, так и S_p-изомеров) стабилизировало комплементарный дуплекс. Этот подход несомненно открывает перспективу использования не только индивидуальных изомеров МФАО, но и их смеси с введенными полиароматическими остатками для эффективного воздействия на НК.

Полученные 3'- и 5'-P_hn-производные октатимидилатов в виде фосфодиэфира (Ia) и (IIa), R_p-((I-R_p) и (II-R_p)) и S_p-((I-S_p) и (II-S_p)) изомеров МФАО далее были использованы для синтеза соответствующих

5'- и 3'-алкилирующих производных типа (VII) и (XI) (см. схему и табл. 1).

С этой целью соединения типа (II), содержащие CH_3S -группу, были обработаны иодом и превращены в производные типа (X) с деблокированной 3'-концевой фосфатной группой. Соединения типа (I), имеющие свободную 5'-ОН-группу, подвергали кипириванию и получали 3'-Phn-производные октатимидилатов типа (VI), несущие на 5'-конце фосфатную группировку.

Остаток алкилирующего амина вводили по 3'- и 5'-концевым фосфатным группам производных типа (X) и (VI) после предварительной их активации действием Ph_3P , $(\text{PyS})_2$ в присутствии MeIm [11]. Конечные продукты выделяли обращенно-фазовой хроматографией. Из рис. 5 и данных табл. 1 видно, что соответствующие производные соединений (VII) и (XI) имеют близкие хроматографические характеристики, хотя для производных (VII) и (VI), имеющих Phn-остатки на 3'-конце, а алкилирующий NHCH_2RCl и фосфатный остаток на 5'-конце соответственно, наблюдаются несколько большие времена удерживания по сравнению с аналогичными соединениями (XI) и (X), но содержащими остаток Phn на 5'-, а $-\text{NHCH}_2\text{RCl}$ и фосфатные остатки на 3'-конце олигонуклеотидов соответственно. Вероятно, это связано с несколько различающейся пространственной организацией 5'- и 3'-концевых остатков в этих соединениях. Выходы алкилирующих реагентов (VII) и (XI) составляли 62–71%. Наличие $(-\text{NHCH}_2\text{RCl})$ -остатка подтверждено алкилированием тиосульфата [9], которое для этих реагентов протекает с выходом более 95%.

Согласно нашим, а также ранее опубликованным данным [9, 10], соединения типа (VII) и (XI), содержащие остаток N-(2-гидроксиэтил)феназиния, являются более эффективными алкилирующими реагентами по сравнению с соответствующими соединениями, не содержащими остаток N-(2-гидроксиэтил)феназиния. Результаты использования алкилирующих соединений на основе МФАО, несущих остаток красителя, полученных в данной работе, будут опубликованы в последующих сообщениях.

Экспериментальная часть

В работе использованы 4-(N-метиламино-N-2-хлорэтил)бензиламин — продукт опытного химического производства НИОХ СО АН СССР, N-метилимидазол (Ega, Chemie, ФРГ); этилендиамин, 2,2'-дипиридилдисульфид и трифенилфосфин (Fluka A, Швейцария); T4-полинуклеотидкиназа (КФ 3.7.1.78; СКТБ БАВ, Бердск); хлорид N-(2-гидроксиэтил)феназиния получен по методу [13] и любезно предоставлен Г. В. Шишкиным.

Кривые плавления комплементарных комплексов олигонуклеотидов (0,2 M NaCl, 0,01 M трис-HCl (pH 7,4), 0,01 M MgCl_2 , концентрация олигонуклеотидов $1 \cdot 10^{-3}$ M) регистрировали с помощью специальной установки, созданной на базе микроспектрофотометра «Обь-4» и микроЭВМ «Искра-226». Температуру плавления определяли по точке перегиба кривых плавления. Термодинамические параметры комплексообразования рассчитаны на основе модели «двух состояний» с линейными базовыми линиями кривых плавления [14]. Величины параметров ΔH° и ΔG° определяли методом подгонки кривой плавления к экспериментальной. Разность по оптической плотности между расчетом и экспериментом во всех случаях составляла менее 0,04%.

Все приборы, материалы и методы, использованные в работе при обращенно-фазовой хроматографии (рис. 1, 2, 5), а также при получении электронных спектров поглощения соединений (рис. 3 и 4), подробно описаны в предыдущих сообщениях [1–3].

Получение цетавлоновых солей олигонуклеотидов и активацию их 3'- и 5'-концевых фосфатных групп проводили в абсолютном диметилсульфоксиде аналогично ранее описанным методам [3, 11].

Синтез октатимидилатов (III- R_p , III- S_p , IIIa) описан ранее в работах [2, 3]. Электронные спектры соединения (III- R_p) приведены на рис. 3, хроматографические подвижности соединений (III- R_p , III- S_p , IIIa) — в табл. 1.

13. Шишкин Г. В. // Химия гетероциклич. соедин. 1984, № 10, С. 1407–1411.
14. Petersheim M., Turner D. H. // Biochemistry. 1983, V. 22, № 2, P. 256–263.
15. Грязнов С. М., Горн В. В., Зарытова В. Ф., Кумарев В. П., Левина А. С., Полуцук А. С., Потанов В. К., Почемкин Г. А., Средин Ю. Т., Шабарова З. А. // Изв. Сиб. отд. АН СССР. Сер. хим. наук. 1987, Вып. 1, № 2 С. 119–123.

Поступила в редакцию
17.1.1989

REACTIVE OLIGONUCLEOTIDE DERIVATIVES BEARING
METHYLPHOSPHONATE GROUPS. IV. STABILIZATION
OF COMPLEMENTARY COMPLEXES OF METHYLPHOSPHONATE
OCTATHYMIDYLATES BY N-(2-HYDROXYETHYL)PHENAZINIUM
RESIDUE

AMIRKHANOV N. V., ZARYTOVA V. F., LEVINA A. S., LOKHOV S. G.

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

Polyaromatic groups covalently bound to 3'- or 5'-terminal phosphate residues of methylphosphonate analogues of oligonucleotides (MPAO) are suggested for stabilizing complementary complexes formed with MPAO. R_p - and S_p -isomeric derivatives of methylphosphonate octathymidylate analogues, $(\text{Phn})\text{NH}(\text{CH}_2)_2\text{NHpTp}(\text{TpTp})_3\text{TpSCH}_3$ (I) and $\text{Tp}(\text{TpTp})_3\text{TpNH}(\text{CH}_2)_2\text{NH}(\text{Phn})$ (II) (p - methylphosphonate residue) containing N-(2-hydroxyethyl)phenazinium (Phn) group, were prepared. Melting points of complementary complexes of R_p -isomers of 5'-Phn derivatives (I) and 3'-Phn derivatives (II) with $d\text{C}_5\text{A}_8\text{C}_5$ ($\Delta 18$ and $\Delta 10^\circ\text{C}$) proved to be higher than in similar derivatives bearing no Phn residue. The increase of T_m is shown to be practically independent of the absolute (R_p - or S_p -) configuration of the methylphosphonate fragment. 3'- and 5'-Phn derivatives of MPAQ were used for the synthesis of corresponding 5'- and 3'-alkylating octathymidylates having 4-(N-methyl-N-2-chloroethylamino)benzylamide residues.