

УДК 541.145:547.963.32.07:577.133.4/6

Конъюгаты олигонуклеотидов с порфиринами и их аналогами — реагенты для направленной окислительной модификации нуклеиновых кислот

А. А. Чернонос, Д. Г. Кнорре, О. С. Фёдорова

АЛЕКСАНДР АНАТОЛЬЕВИЧ ЧЕРНОНОСОВ — младший научный сотрудник Института химической биологии и фундаментальной медицины (ИХБФМ) СО РАН. Область научных интересов: синтез и исследование механизма взаимодействия с нуклеиновыми кислотами производных олигонуклеотидов с фталоцианинами.

ДМИТРИЙ ГЕОРГИЕВИЧ КНОРРЕ — академик, советник РАН, профессор, главный научный сотрудник ИХБФМ СО РАН. Область научных интересов: биоорганическая химия и молекулярная биология процессов репликации и транскрипции, разработка ген-направленных биологически активных веществ на основе олигонуклеотидов.

ОЛЬГА СЕМЕНОВНА ФЁДОРОВА — доктор химических наук, заместитель директора ИХБФМ СО РАН, профессор Новосибирского государственного университета. Область научных интересов: разработка ген-направленных биологически активных веществ на основе олигонуклеотидов, кинетика и механизмы их взаимодействия с нуклеиновыми кислотами.

630090 Новосибирск, просп. Акад. Лаврентьева, 8, ИХБФМ СО РАН, тел. (3832)30-92-74, факс (3832)-33-36-77, E-mail fedorova@niboch.nsc.ru

Созданию терапевтических препаратов селективно-го действия на основе олигонуклеотидов, содержащих реакционноспособные группы, посвящено большое число исследований [1]. Они основаны на высказанной в работе [2] идее о том, что если к олигонуклеотиду присоединить такую группу, то он будет способен направить (адресовать) ее на участок РНК- или ДНК-мишени, комплементарный адресующему олигонуклеотиду. Поэтому олигонуклеотиды, их производные, содержащие химические группы различной природы, а также аналоги олигонуклеотидов начали широко исследовать для подавления экспрессии генов как возможные противовирусные и противоопухолевые препараты [3].

В реакционноспособных производных олигонуклеотидов в настоящее время применяют различные химические активные группы: термически активируемые, фотоактивируемые и каталитически активные группы [1]. Среди таких группировок представляют интерес соединения порфиринов и их аналогов как в форме металлокомплексов, так и неметаллированные. Эти соединения в силу уникальности своей электронной структуры обладают широким спектром полезных свойств: 1) некоторые типы порфиринов обладают высоким сродством к нуклеиновым кислотам [4]; 2) в отличие от большинства металлокомплексов, генерирующих свободные гидроксильные радикалы, диффундирующие в раствор, в металлопорфинах активные кислородные частицы не выходят из координационной сферы металлокомплекса [5], что позволяет осуществлять высокоселективную модификацию нуклеиновых кислот; 3) порфириновые группы способны эффективно проникать в клетки [6] и, вероятно, могут способствовать проникновению в клетки олигонуклеотидных производных.

Свободные основания порфиринов и их комплексы с диамагнитными металлами (Zn, Al, Pd) обладают фотохимической активностью как за счет сенсibili-

зации генерации синглетного кислорода, так и из-за возможности прямой реакции возбужденного порфирина с нуклеиновой кислотой [7]. Комплексы порфиринов с ионами переходных металлов способны катализировать окислительную деструкцию ДНК и РНК с помощью O_2 , H_2O_2 и других окислителей.

В данном обзоре рассмотрены методы синтеза производных олигонуклеотидов с порфиринами и их аналогами и результаты их испытания в качестве адресованных реагентов. Для удобства рассмотрения проведено разбиение всех производных на основе гомологии реакционных групп. Так фотоактивируемые группировки были разделены на: 1) порфирины, 2) хлорины, 3) сапфирины и комплексы тексафирина Lu(III). Соответственно, группировки участвующие в реакциях с сопряженными восстановителями были разделены на: 1) различные производные порфиринов, 2) тексафириновые комплексы, 3) корриновые комплексы.

Список сокращений

ACCl — адамантанкарбонилхлорид
BOP — бензотриазол-1-ил-N-окси-трис(диметилами-
но)фосфоний
CDI — 1,1'-карбосидиимидазол
DCC — дициклогексилкарбодиимид
DMAP — диметиламинопиридин
DMF — диметилформамид
DMSO — диметилсульфоксид
DMT-Cl — 4,4'-диметокситритилхлорид
DPEA — диизопропилэтиламин
HEPES — 4-(2-гидроксиэтил)пиперазин-1-этансуль-
фовая кислота
HOBT — 1-гидроксибензотриазол
MeIm — 1-N-метилимидазол
MOPS — 3-(N-морфолино)пропансульфовая кислота
NMM — N-метилморфолин
ODN — олигодезоксирибонуклеотид
ODN[#] — защищенный олигодезоксирибонуклеотид

PNA — пептидоолигонуклеотид
 Ph₃P — трифенилфосфин
 Por — порфирин
 Py — пиридин
 Py₂S₂ — дипиридилдисульфид
 ТА — тетразол
 ТВАФ — тетрабутиламмонийфторид
 ТЕА — триэтиламин
 ТЕАВ — триэтиламмоний бикарбонат
 THF — тетрагидрофуран
 TPS — триизопропилбензолсульфонилхлорид

Фотоактивируемые конъюгаты олигонуклеотидов

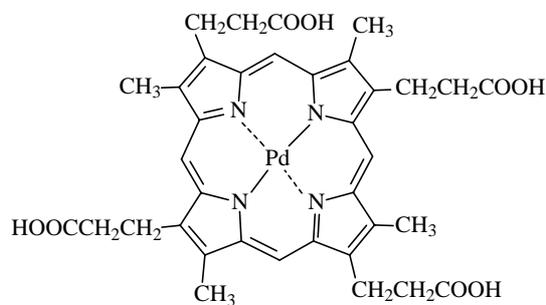
Порфирины

Порфирины представляют собой 18 π-электронные ароматические макроциклические системы, которые имеют характерный оптический спектр с очень сильным π-π* переходом при длине волны около 400 нм (известный как полоса Core) и с 4 Q-полосами в видимой области в интервале 500—600 нм. Было установлено, что порфирины служат сенсбилизаторами генерации синглетного молекулярного кислорода ¹O₂ по механизму фотопротекста типа II. Это их свойство используется в методе лечения онкологических заболеваний — фотодинамической терапии (ФДТ) [8]. Основой ФДТ служит способность сенсбилизатора локализоваться в опухолях и разрушать их под действием света. В отличие от радиационной и химиотерапии ФДТ обладает незначительной мутагенностью. За исключением высокой светочувствительности кожи в первый период после курса лечения этот метод не имеет тяжелых побочных эффектов. В настоящее время он разрешен к применению во многих странах и продолжает интенсивно развиваться.

Развитие метода ФДТ идет как по пути улучшения фотофизических характеристик сенсбилизаторов, так и повышения селективности их действия в отношении опухолевых клеток, не затрагивая здоровые ткани. Улучшение фотофизических свойств направлено на поиск соединений, обладающих поглощением в более длинноволновой части спектра видимого света, чем порфирины, то есть, в области 600—700 нм и выше. Это расширяет возможности метода ФДТ и уменьшает светотоксичность препаратов. Однако по-прежнему актуальной является задача улучшения специфичности действия реагентов, используемых в ФДТ. Один из путей увеличения специфичности — присоединение фотосенсбилизатора к какому-либо вектору, способствующему селективному его накоплению опухолевыми клетками и направляющими его действие на определенные клеточные мишени. Такими векторами могут служить молекулы олигонуклеотидов, комплементарные определенным участ-

кам матричных РНК, кодирующих белки, которые участвуют в процессах возникновения и развития онкологических заболеваний.

Первое фотоактивируемое производное олигонуклеотида на основе порфирина было использовано в работе [9], где описан синтез конъюгата **K1** 17-звенного олигонуклеотида **O1** с соединением **1** (Pd(II)-копропорфирином I).



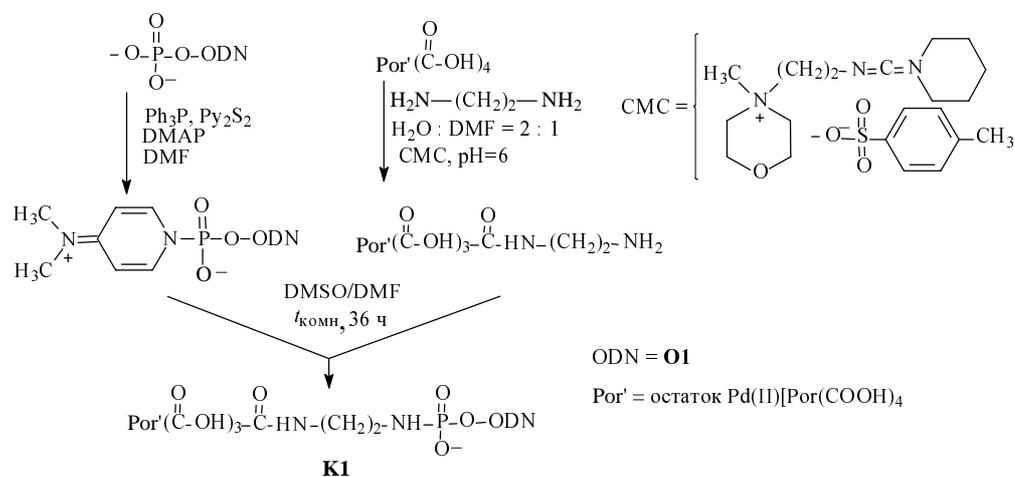
Pd(II)-копропорфирин I, Pd(II)([Por(COOH)₄]
1

Нуклеотидные последовательности олигонуклеотидов **O**, мишеней **M** и образуемых ими комплексов — дуплексов **D** и триплексов **T** приведены на рис. 1.

Для синтеза конъюгата необходимо было активировать концевой 5'-фосфат олигонуклеотида **O1** (схема 1). Синтез конъюгата **K1** проводили в две стадии: на первой стадии синтеза к одному из остатков пропионовой кислоты порфирина **1** присоединяли этилендиаминовый линкер. На второй стадии свободная аминогруппа линкера вступала в реакцию с активированным 5'-концевым фосфатом олигонуклеотида **O1** (схема 1). Выход конечного продукта **K1** по отношению к исходному олигонуклеотиду составил 10%.

В качестве мишени использовали 34-звенный олигонуклеотид **M1**, содержащий комплементарную последовательность к реагенту **K1**.

Для исследования модификации мишени **M1** в составе дуплекса **D1** проводили облучение смеси растворов мишени **M1** и конъюгата **K1** светом ртутной лампы высокого давления в области спектра 330—410 нм. Было показано, что между мишенью и реагентом образуются ковалентные сшивки, которые после



ODN = **O1**
 Por' = остаток Pd(II)[Por(COOH)₄

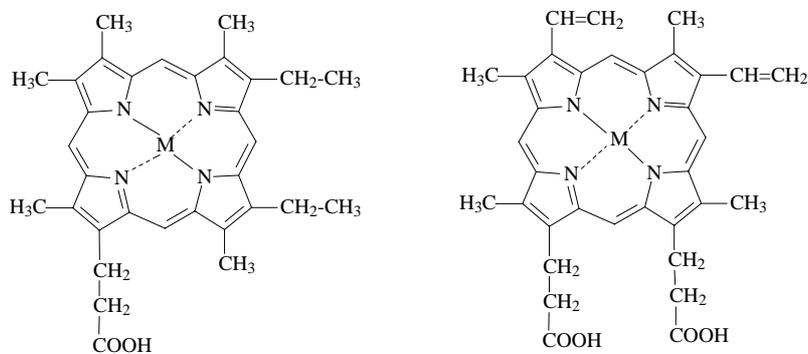
Схема 1

Д1	5' GGCACCCAGAACTAATGAATGAAGGTGGAGAGGT 3' M1 3' CCGTGGGTCTTGATTCp 5' O1	Д16	5' CATAGGAGAGCAAGAAATGGAGCCAGTAGATCCTA 3' M17 3' CTCTCGTTCTTTACCTCGGp 5' O13
Д2	5' GUGCCCGUCUGUUGUGUGACUCUG 3' M2 3' ACGGGCAGACAAp 5' O2	Д17	5' CATCTCCTATGGCAGGAAGAAGCGGAGACAGCGAC 3' M18 3' AGCGTACCGTCTTCTTTCGCCTp 5' O16
Д3	5' TGAATGGGAAGAGGGTCAGGTT 3' M3 3' ACCCTTCTp 5' O3	Д18	5' ⁶¹ CGCCGUAGC ⁶⁹ 3' M19 3' GCGCCACCAGGp 5' O18
Д4	5' AAAAAAAAAAAGTGT 3' M4 3' TTTTTTTTTTTP 5' O4	Д19	5' ⁷² CGAUGGU ⁷⁸ 3' M20 3' GCGCCACCAGG 5' O19
Д5	5' ATATCCGCGGAGAAAGGAGAAGAA 3' M5 3' pTCTTTCCTTCTT 5' O5	Д20	5' ⁸² GUGGGGUCUCC ⁹² 3' M21 3' GCGCCACCAGG 5' O3
Д6	5' CAACACCCGGTCAACAGATGAAGTCTCCAAAATAAA 3' M8 3' GGGCCGAGUGUCUACp 5' O6	Д21	5' ⁹⁴ GG ⁹⁹ GGUC 3' M22 3' GCGCCACCAGG 5' O17
Д7	5' ACAGAACATTCGCTATGGCCGAGTGGAGAGACCGCG 3' M9 3' AAGCGAUACCGGCUCp 5' O7	Д22	5' CAACACCCGGCUCACAGAUGAAGUCUCCAAAAUAAA 3' M20 3' GTTGTGGGCGAGTGTCTACp 5' O19
Д8	5' AACCGTGAGTAAAAAAAAAATGAGTGAGT 3' M10 3' TTTTTTTTTTTP 5' O4	Д23	5' CAACACCCGGCUCACAGAUGAAGUCUCCAAAAUAAA 3' M20 3' AGTGTCTACXTCAGAGGT 5' O20
Д9	5' (AAAAA) _n 3' M11 3' TTTTTTT 5' O8	Д24	5' GGGAGAGGGT CAG 3' M21 3' ACCCTTCTp 5' O3
Д10	5' TGAGTGAGTAAAAAAAAATGAGTGGCAA 3' M12 3' TTTTTTT 5' O8	Т1	5' TATCCGCGGAGAAAGGAGAGAA 3' M5 3' pTCTTTCCTTCTT 5' O5 3' TATACAGCGCTCTTTCCTTCTT 3' M6
Д11	5' ...TTGAATGGGAAGAGGGT CAGGTTCC... 3' M13 3' rAd (CCCTTCTCCAGT) 5' O9	Т2	5' TCGCGGAAAGGAGAAGAA 3' M7 3' pTCTTTCCTTCTT 5' O5 3' TCGGCTCTTTCCTTCTT 5' M7
Д12	5' ...TTGAATGGGAAGAGGGT CAGGTTCC... 3' M13 3' TTACCCTTCTCCAGT 5' O10	Т3	5' TCGACCTGCAGTTTTTCTTCTTCTG CAGGCATGCAAGC 3' M16a 3' AGCTGGAGCTCAAAGAAGAAGACGTAAGTACGTTCG 5' M16b
Д13	5' TGAATGGGAAGA 3' M14 3' TTACCCTTTP 5' O11		5' H-(ado) _n -TTJTJTJTJT-(ado) ₃ -TTTTCTTCTT 3' O15*
Д14	5' CAGAGGAGAGCAAGAAATGGAGCCAGTAGATCCTA 3' M15 3' CTCTCGTTCTTTACCTCGGp 5' O13		
Д15	5' CAGAGGAGAGCAAGAAATGGAGCCAGTAGATCCTA 3' M15 3' AGCGCTCTCGTTCTTTACCTCGGp 5' O14		

Рис. 1. Нуклеотидные последовательности олигонуклеотидов О, мишеней М и образуемых ими комплексов Д и Т

* пептидоолигонуклеотид

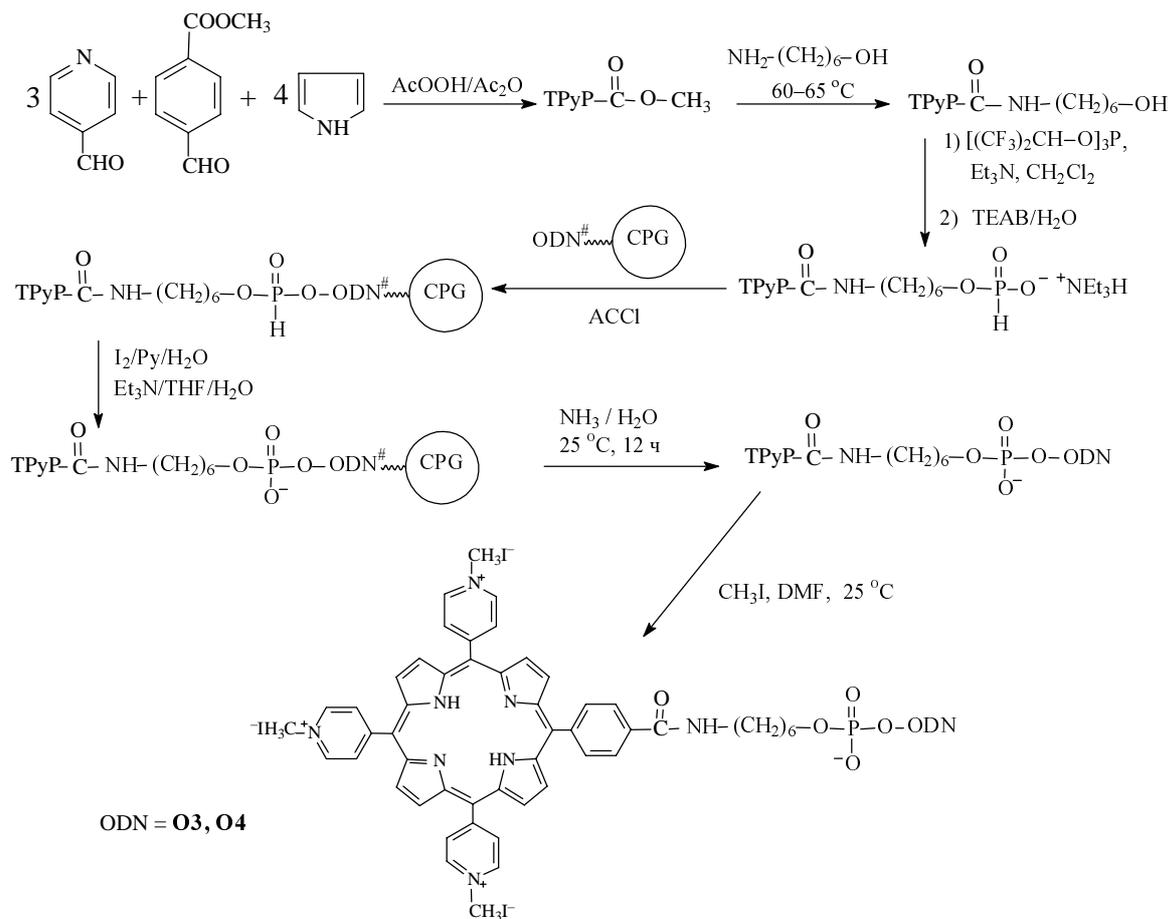
обработки 1 М пиперидином давали продукты расщепления олигонуклеотидами-мишени по основаниям G¹⁷ и, в меньшей степени, T¹⁶. Положение в мишени модифицированных нуклеотидов свидетельствовало о протекании реакции в комплементарном комплексе между олигонуклеотидным фрагментом реагента и комплементарным участком ДНК-мишени. Общий выход реакции модификации достигал 30%. Косвенные доказательства образования в ходе реакции в качестве промежуточного соединения синглетного молекулярного кислорода были получены в экспериментах с использованием D₂O вместо H₂O. В этих условиях наблюдали повышение уровня



Метилпирропорфин XXI
2a, M = 2H
2b, M = Zn(II)

Протопорфин IX
3a, M = 2H
3b, M = Zn(II)

Схема 2



CPG — стекло с контролируемыми порами

Схема 5

Синтез проводили в несколько этапов: сначала был синтезирован порфирин, затем вводили бифункциональный линкер, содержащий на одном конце амино-, а на другом гидроксильную группу. На следующем этапе синтеза порфирин переводили в его Н-фосфонатное производное, которое в присутствии адамантанкарбонилхлорида реагировало с полностью защищенным олигонуклеотидом, находящимся на твердом носителе. Далее были проведены стадии окисления Н-фосфоната, гидролиза, снятия защитных групп и реакция N-метилирования остатков пиридина в порфирине (схема 5). Продукты синтеза были получены с 60–70% выходом.

С олигонуклеотидами O3 и O4 были синтезированы конъюгаты K6–K9, структуры которых приведены в таблице 2. Эти конъюгаты образовывали с мишенями M3 и M4 комплексы Д3 и Д4, соответственно (рис. 1).

Таблица 2

Структуры конъюгатов порфиринов 4 и 5 с олигонуклеотидами

Конъюгат	Порфирин	Олигонуклеотид
K6	4	O3
K7	4	O4
K8	5	O3
K9	5	O4

Реакционные смеси облучали в течение 10 мин светом Nd:YAG лазера при длине волны 532 нм. Для всех конъюгатов, содержащих в структуре порфирина как неметилированный остаток пиридина — K6–K7, так N-метилированный остаток пиридина — K8–K9, было показано, что в результате реакции модификации образуются продукты сшивки с выходом примерно 20%. После обработки пиперидином было обнаружено, что модификация протекала преимущественно по основаниям G¹¹, G¹³–G¹⁵ в случае 22-звенного олигонуклеотида — мишени M3, и по основаниям G¹³ и G¹⁵ 16-звенной мишени M4. Общий выход реакции модификации олигонуклеотида M3 составил 77% и 84% в случае конъюгатов K6 и K8, соответственно. Положения модифицированных нуклеотидов свидетельствовали о протекании реакции в комплементарных комплексах.

Хлорины

В работе [13] авторы использовали в качестве реакционной группы хлорины 6 и 7 (схема 6), получив их путем восстановления протопорфирина и гептаэтилвинилпорфирина. Хлорины характеризуются сильным возрастанием интенсивности длинноволновой полосы спектра поглощения и ее bathochromic смещением по сравнению с порфиринами. В длинноволновой области спектра свет способен проникать в живые ткани, что удобно для проведения ФДТ. Причем с возраста-

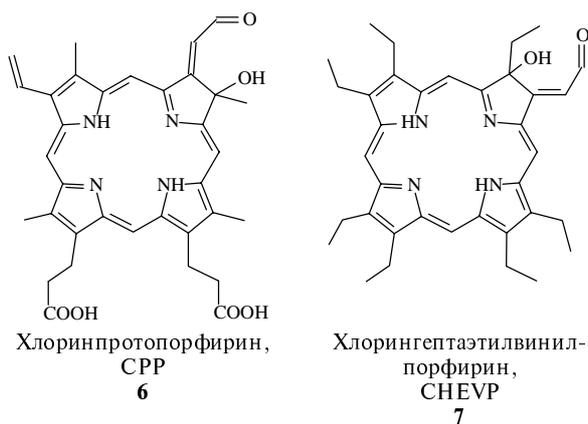


Схема 6

нием длины волны света увеличивается глубина его проникновения в ткани.

Хлоринпропионатхлорин **6** был выбран из-за наличия в его структуре двух остатков пропионовой кислоты, что, по замыслу авторов, (как и в случае других реакционно-способных соединений, имеющих карбоксильную группу) позволяло сразу использовать **6** в синтезе олигонуклеотидного производного (схема 7). Выход конечных продуктов составил 30–40%.

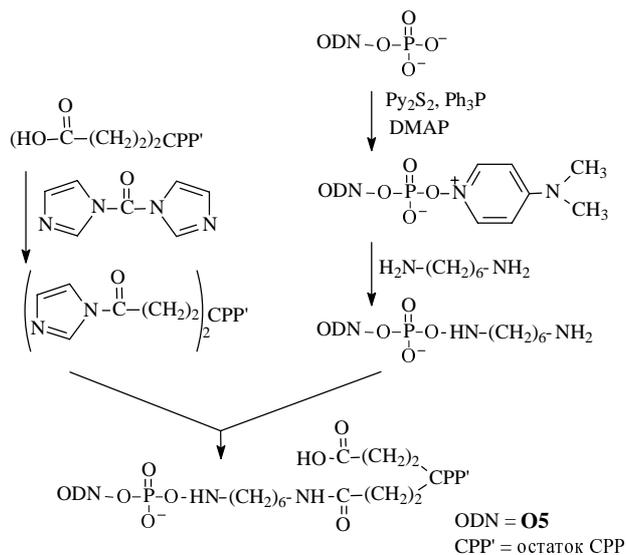


Схема 7

Было предложено синтезировать конъюгаты, содержащие CHEVP **7**, двумя методами. В первом случае к олигонуклеотиду присоединяли линкер в виде дигидразида адипиновой кислоты, аминогруппа которого участвовала в дальнейшей реакции с альдегидной группой хлорина (схема 8). В этом случае получали продукты реакции с выходом около 40%. Другой метод синтеза отличался тем, что диаминогексанол, как линкер, сначала присоединяли к альдегиду хлорингептаэтилвинилпорфирина **7**, и только потом проводили реакцию с активированным фосфатом олигонуклеотида с выходом 70–80% (схема 9).

Были синтезированы три конъюгата **K10–K12** (см. табл. 3). Только **K11** был испытан как реагент для направленной фотомодификации нуклеиновых кислот.

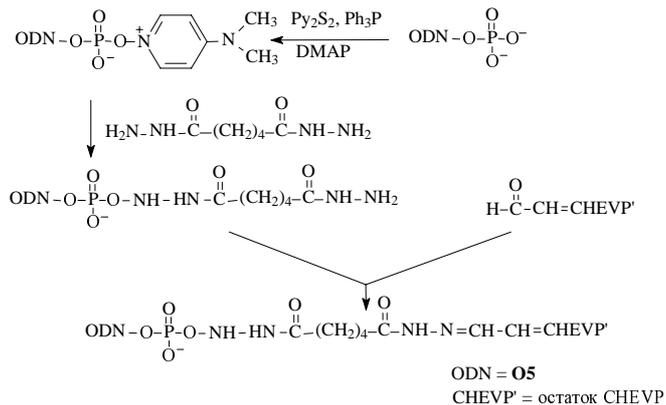


Схема 8

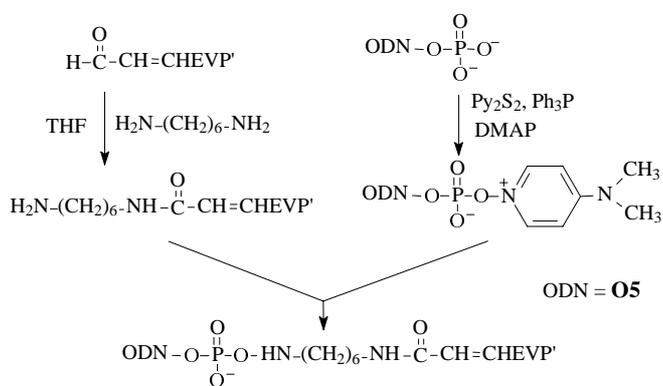


Схема 9

Использовали три различные мишени: одноцепочечный олигонуклеотид **M5**; дуплекс, состоящий из мишеней **M5** и **M6** и дуплекс, образованный олигонуклеотидом **M7**. Взаимодействие мишеней **M5**, **M6** и **M7** с конъюгатом **K11** приводило к образованию дуплекса **D5**, триплексов **T1** и **T2**, соответственно (рис. 1).

Комплексы **D5**, **T1** и **T2** облучали светом ксеноновой лампы в видимой области спектра (свыше 310 нм) и при длинах волн 428 и 668 нм. Для всех комплексов было обнаружено, что выход продуктов модификации растет от времени облучения. На примере 41-звенного олигонуклеотида-мишени **M7** было показано, что максимальная степень модификации по положениям 13–26 достигала 29% и 23% за 900 с при облучении на длинах волн 428 нм и 668 нм, соответственно. Также было обнаружено, что в основном модифицируются основания, преимущественно гуанозины, находящиеся в области расположения молекулы хлорина в составе комплексов.

Таблица 3

Структуры конъюгатов, содержащих хлорины **6** и **7**

Конъюгат	Хлорин	Олигонуклеотид	№ схемы синтеза
K10	6	O5	7
K11	7	O5	8
K12	7	O5	9

Комплексы тексафирина и сапфирина

Дальнейший поиск фотоактивных группировок, поглощающих в более длинноволновой области спектра по сравнению с порфиринами и хлоринами, привел к аналогам порфиринов с расширенным циклом, таким как сапфирин **8** и тексафирин **9**, содержащий Lu(III) (схема 10). Лютециевый комплекс тексафирина растворим в воде и имеет сильное поглощение вблизи 740 нм. Сапфирин **8** также поглощает свет в области спектра свыше 600 нм. В работе [14] были исследованы олигонуклеотидные конъюгаты с обоими соединениями.

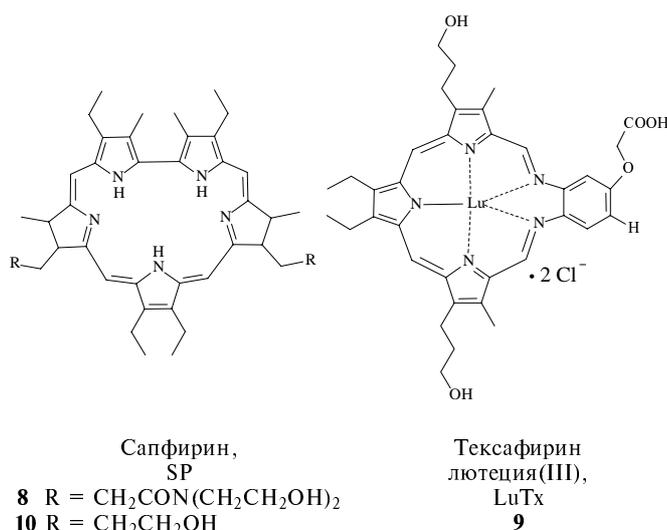
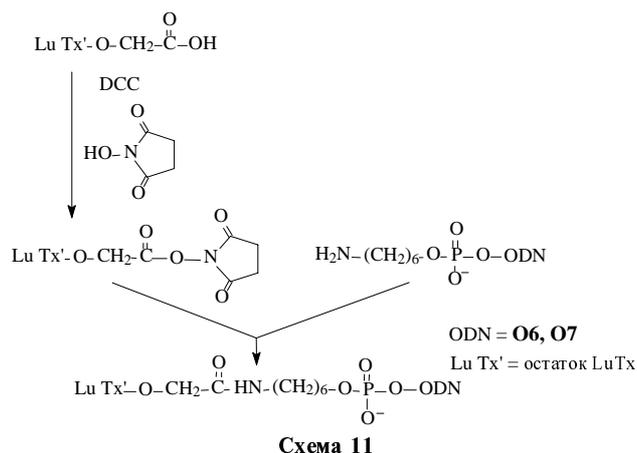


Схема 10

Сравнив способность реагентов **8** и **9** расщеплять ДНК, авторы выяснили, что более эффективен комплекс тексафирина лютеция **9**, который и использовали для синтеза конъюгатов. Метод синтеза заключался во взаимодействии активированной карбоксильной группы тексафирина лютеция **9**, в виде N-оксисукцинимидного эфира, с аминогруппой линкера олиго-рибонуклеотида (схема 11). Выход продуктов синтеза не приведен. В синтезе конъюгатов **K12** и **K13** были использованы 15-звенные 2'-О-метил-рибоолигонуклеотиды **O6** и **O7**, комплементарные 36-звенным дезоксирибоолигонуклеотидам — мишеням **M8** и **M9**, соответственно (рис. 1).

Фотомодификацию проводили в дуплексах **D6** и **D7**, облучая комплексы в течение 15 мин светом лазера на красителях, настроенного на длину волны 732 нм. Было показано, что модификация протекает в основном (70—80%) в пределах сайта комплементарного взаимодействия конъюгата с мишенью, преимущественно по гуанозинам. Щелочеллабильными сайтами модификации для



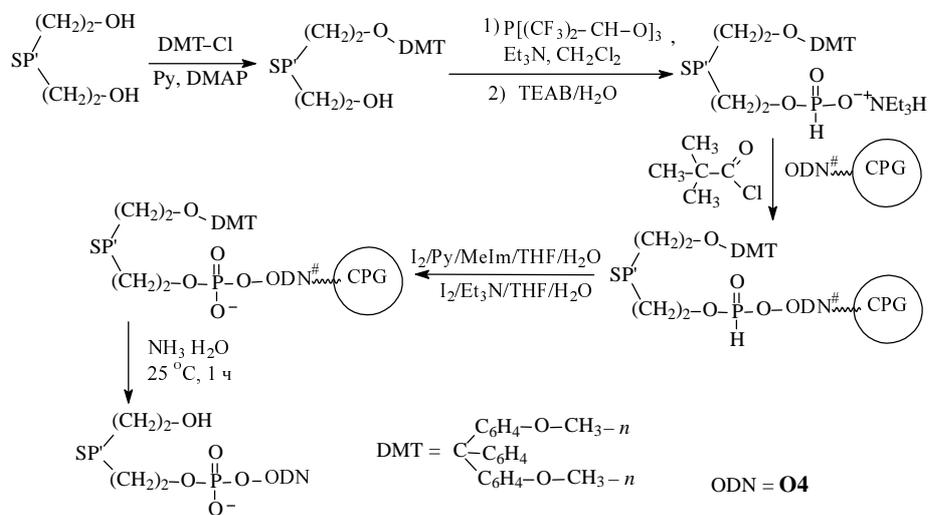
M8 являлись G⁹, G¹⁷, G²⁰ и G²³, а для **M9** — G¹², G¹⁷, G¹⁸, G²¹ и G²³. Общий выход реакции модификации в обоих случаях был невысоким.

Синтез конъюгата сапфирина с олигонуклеотидом и испытание его как фотомодифицирующего агента было описано в работе [15]. Сапфирин **10** (см. схему 10) отличался от **8** только боковым заместителем R.

Синтез конъюгата авторы проводили в несколько стадий по тому же методу синтеза, что и в работе [12] с выходом 56% (см. схему 5). Отличиями были использование вместо адамантанкарбонилхлорида пивалоилхлорида в качестве конденсирующего агента и отсутствие стадии N-метилирования (схема 12).

Для синтеза конъюгата **K14** использовали олигонуклеотид **O4**, который образует дуплекс **D8** с олигонуклеотидом — мишенью **M10** (рис. 1).

Дуплекс **D8** облучали светом ксеноновой лампы высокого давления с использованием фильтра, вырезающего из спектра область ниже 620 нм. Было показано, что образуются сшивки с выходом 4—7%. После обработки пиперидином для выявления щелочеллабильных модификаций было обнаружено, что модификация мишени **M10** протекала в области расположения реакционной группы, преимущественно по положениям G²⁴, G²⁶, G²⁸, G³⁰ с общим выходом 15—23%.



лоцианинов с парамагнитными ионами переходных металлов являются одними из наиболее эффективных катализаторов таких процессов окисления [18]. Поэтому эти комплексы могут выступать в качестве активных группировок в реакционноспособных производных олигонуклеотидов и вызывать специфическую деградацию нуклеиновых кислот в темновых условиях.

Первое производное олигонуклеотида, содержащие железопорфириновый фрагмент, получено на основе комплекса метилпирропорфина XXI **2a** с Fe(III) [19]. В рассматриваемой работе описывается синтез конъюгата Fe(III) метилпирропорфина XXI с олигонуклеотидом и испытание его как реагента для сайт-специфической модификации. Авторы предложили следующий метод синтеза: этиловый эфир метилпирропорфина XXI взаимодействует с амино-1-гексанолом с образованием амидной связи; полученное соединение вступает в реакцию с 3'-фосфатной группой защищенного гептатимидилата. После снятия защитных групп в атмосфере аргона в остаток порфина вводится ион металла (схема 14).

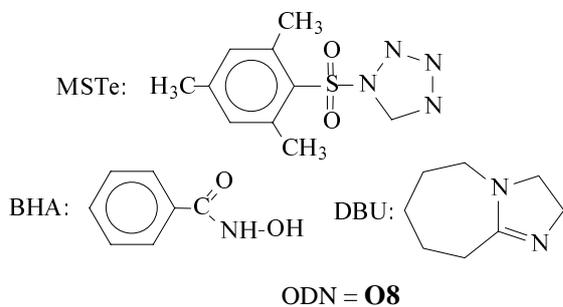
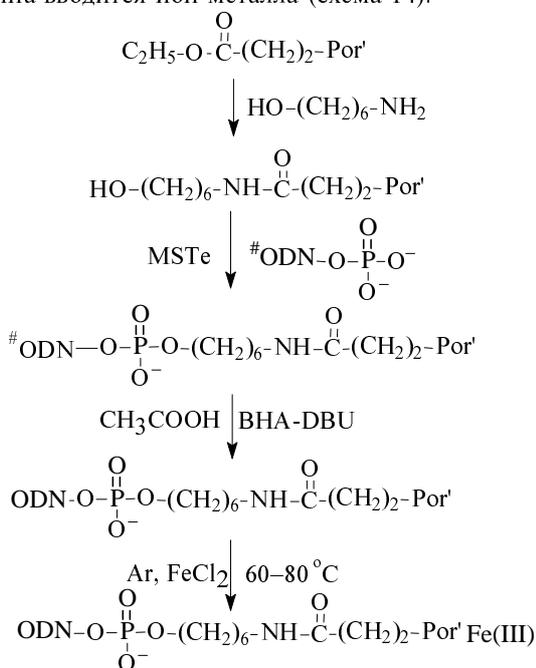


Схема 14

Таким же методом в работе [19] присоединяли порфирин к 5'-концевому фосфату олигонуклеотида, несущего на 3'-конце остаток акридина (схема 15).

Для получения порфиринового производного гептатимидилата, не имеющего фосфатной группы на

3'-конце, был предложен альтернативный вариант этого синтеза (схема 16). Сначала синтезировали замещенный по 3'-концу мономер тимидина, в котором на 3'-гидроксиле находился линкер, содержащий алифатическую аминогруппу. Полученный замещенный

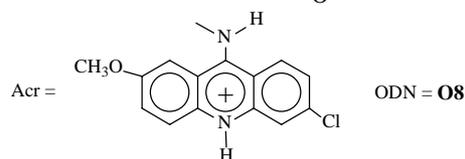
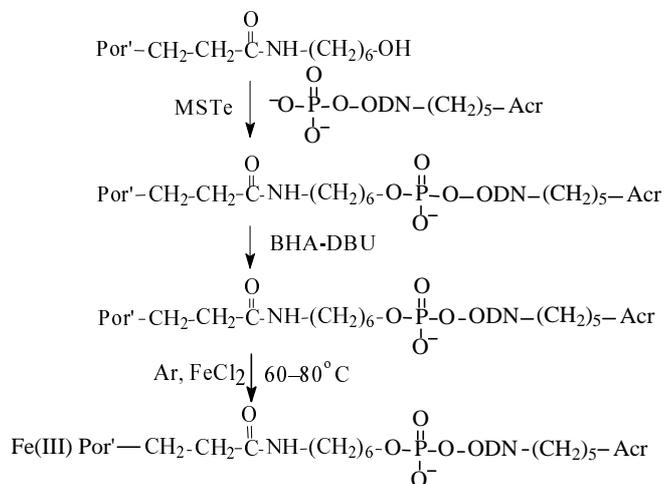


Схема 15

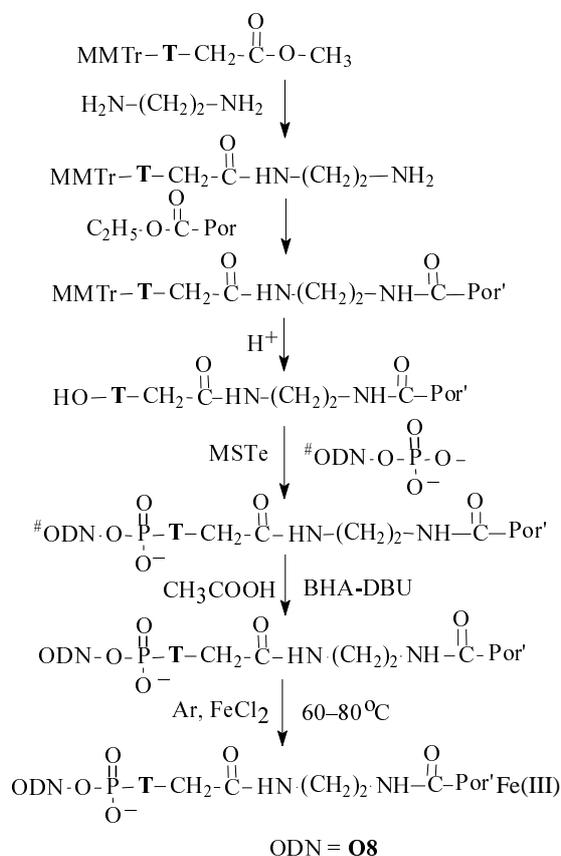


Схема 16

Таблица 5

Расположение порфирина 2 в конъюгатах K22–K25

Конъюгат	3' Конец	5' Конец
K22	Por–NH–(CH ₂) ₂ –NH–CO–CH ₂ –O–	–OH
K23	Por–NH–(CH ₂) ₄ –NH–CO–CH ₂ –O–	–OH
K24	Por–NH–(CH ₂) ₆ –	–OH
K25	Ac–(CH ₂) ₅ –	–(CH ₂) ₆ –NH–Por

тимидин вводили в реакцию с этиловым эфиром порфирина (взаимодействие по алифатической аминогруппе линкера) и затем наращивали олигонуклеидную цепь.

Были синтезированы конъюгаты **K19** (схема 14), **K20** (схема 15) и **K21** (схема 16), содержащие олигонуклеотид **O8**, комплементарный олигонуклеотиду — мишени **M11** (рис. 1). Как мишень использовали и олигодезоксирибонуклеотид и олигорибонуклеотид. Модификацию мишеней проводили в составе дуплекса **D9** при 0 °С в присутствии 5 мМ дитиотреита в качестве сопряженного восстановителя.

Максимальный выход реакции модификации конъюгатами **K19** и **K21** составлял 37% для поли(dA) и 20% для поли(rA). Использование неметаллированных аналогов конъюгатов **K19** и **K21** не приводило к расщеплению олигонуклеотида **M12**. В экспериментах с конъюгатом **K20** при 0 °С степень модификации была низкой, однако повышалась при более высокой температуре.

В следующей работе этой лаборатории [20] были синтезированы несколько конъюгатов метилпирропорфирина XXI с олигонуклеотидом **O8** (см. табл. 5) такими же методами синтеза (см. схемы 14–16).

В этой работе авторы провели детальное испытание полученных конъюгатов, как реагентов специфичных к последовательности олигонуклеотида мишени **M12** в комплексе **D10** (рис. 1). Модификацию проводили в присутствии аскорбата натрия, дитиотреита или меркапто-пропионовой кислоты как сопряженных восстановителей или в присутствии перекиси водорода. Для сравнения эффективности модификации в зависимости от координированного металла в порфирине синтезировали соединение **K23** с различными металлокомплексами метилпирропорфирина XXI: Fe(III), Co(III), Mn(III) и Cu(II). Было показано, что конъюгат **K23**, содержащий Fe(III), является наиболее реакционноспособным, тогда как **K23** с Mn(III) и Cu(II), так и без металла показали очень низкую активность. В присутствии аскорбата натрия как сопряженного восстановителя наибольшую активность проявило соединение **K24**. Поэтому для дальнейших экспериментов был выбран наиболее реакционноспособный конъюгат **K24**, содержащий Fe(III).

В присутствии дитиотреита и меркапто-пропионовой кислоты — сопряженных восстановителей, в экспериментах с конъюгатом **K24** Fe(III) было обнаружено образование одного и двух продуктов сшивок, соответственно. В этих условиях наиболее сильной модификации подвергался остаток T⁹, тогда как с аскорбатом натрия — G⁸, которые находились в области расположения порфиринового кольца. Общий выход реакции после обработки пиперидином был относительно низок и составлял 1–2%.

В присутствии H₂O₂ в экспериментах с конъюгатом **K24** Fe(III) обнаружено образование продуктов сшивок с выходом 10%. После обработки пиперидином были выявлены три главных фрагмента модификации: G⁸, G⁶ и G⁴. Выход реакции модификации в присутствии H₂O₂ был выше по сравнению с реакциями расщепления в присутствии сопряженных восстановителей, но модификация

проходила по большему числу нуклеотидов мишени, то есть была менее локализована.

Синтез и испытание конъюгата гемина (комплекс Fe(III) с протопорфирином IX **3a**) с олигонуклеотидом описаны в работе [21]. На первой стадии синтеза проводили конденсацию двух карбоксильных групп в молекуле протопорфирина IX **3a**, получая ангидрид. В условиях фосфотриэфирного метода синтеза к олигонуклеотиду присоединяли аминоэтанол, аминогруппа которого в дальнейшем реагировала с внутренним ангидридом гемина. Выход продукта с учетом стадий переосаждения, проводимых в целях очистки, составил около 20% (схема 17).

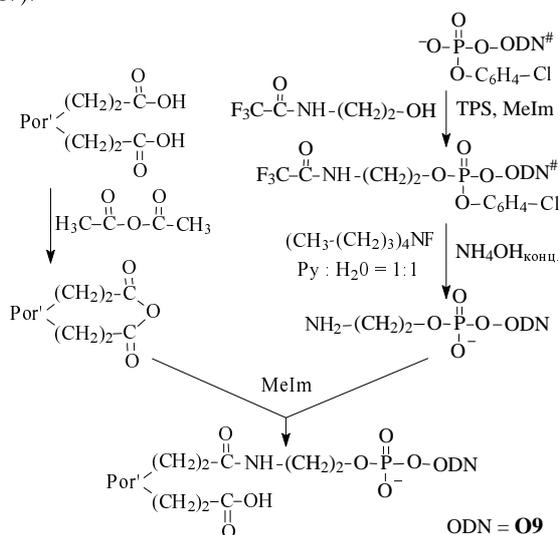


Схема 17

Для синтеза конъюгата **K26** использовали олигонуклеотид **O9**, комплементарный участку 261–274 **M13** 303-звенного одноцепочечного фрагмента кДНК вируса клещевого энцефалита (рис. 1). Было установлено, что после протекания реакции расщепления в присутствии аскорбиновой кислоты как сопряженного восстановителя, появляются два разных продукта сшивок с выходом 45% и 6%. Последующая обработка пиперидином приводила к их исчезновению и селективному расщеплению фрагмента ДНК по остаткам G²⁷⁵ и G²⁷⁶.

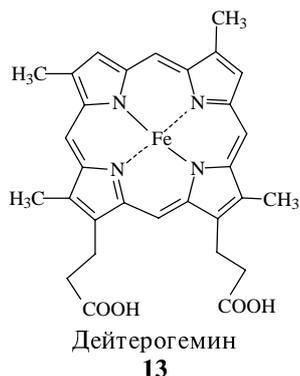
Исследования геминных производных олигонуклеотидов получило продолжение в работе [22], где авторы использовали в качестве реакционной группы не только гемин, но и дейтерогемин **13**.

Синтез проводили по предыдущему методу (схема 17), где в зависимости от синтезируемого конъюгата, добавляли ангидрид либо гемина, либо дейтерогемина. Для синтеза конъюгатов **K27–K30** (табл. 6) использовали

Таблица 6

Структуры конъюгатов, несущих порфирины 3 и 13

Конъюгат	Порфирин	Олигонуклеотид	Линкер	Положение реакционной группы
K27	3	O10	—NH—(CH ₂) ₃ —O—	5'
K28	3	O10	—NH—(CH ₂) ₆ —O—	3'
K29	13	O10	—NH—(CH ₂) ₃ —O—	5'
K30	13	O10	—NH—(CH ₂) ₆ —O—	3'



олигонуклеотид **O10**, комплементарный участку 259—274 **M13** 303-звенного одноцепочечного фрагмента кДНК вируса клещевого энцефалита (рис. 1).

Модификацию мишени **M13** конъюгатом **K27** проводили в присутствии перекиси водорода в течение 1 ч при 25 °С. Было показано, что образуются продукты сшивки, которые после обработки пиперидином преобразуются в продукты модификации ДНК по основаниям G²⁷⁵ и G²⁷⁶. Кроме того, наблюдали расщепление в олигогуаниновой области ДНК (G¹⁷—G³⁴), по-видимому, за счет образования неканонического комплекса с участием пар G—Т. Общий выход реакции расщепления составлял 52%. Модификация мишени **M13** конъюгатом **K28** в присутствии перекиси водорода приводила к расщеплению ДНК, выявляемому после обработки пиперидином, по основаниям G¹⁷—G³⁴, G¹⁷⁹ и G²⁵⁸.

При синтезе конъюгатов **K29—K30** авторам удалось методом обращенно-фазовой ВЭЖХ выделить по два различных продукта в каждом случае: **K29а**, **K29б** и **K30а**, **K30б**. Использование конъюгатов **K29а** и **K30а** приводило к неспецифической модификации с общим выходом реакции около 20%, тогда как конъюгаты **K29б** и **K30б** специфически модифицировали мишень по основаниям G²⁵⁸ и G²⁷⁵, G²⁷⁶, соответственно, с общим выходом реакции модификации 60%.

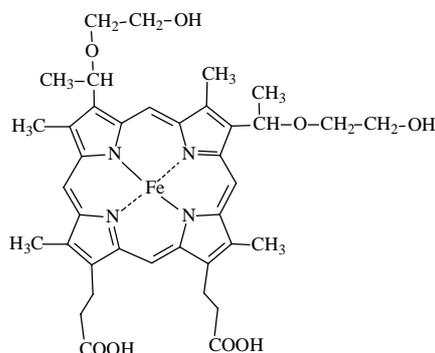
В работе [23] описаны синтез и испытание конъюгатов олигонуклеотидов с дейтеропорфирином IX, замещенным по второму и четвертому положениям α-(2-гидроксиэтокси)-этильными группами.

Авторы предложили общую схему синтеза для получения как 5'-, так и 3'-производных олигонуклеотидов

(схема 18). Выход синтеза на стадии конденсации олигонуклеотида с порфирином составлял 95%.

Для синтеза конъюгата **K31**, несущего комплекс 2,4-ди[α-(2-гидроксиэтокси)этил]-дейтеропорфирина IX с Fe(III), как и в предыдущей работе использовали олигонуклеотид **O10**, комплементарный мишени **M13** (рис. 1). Так как **14** содержит две несимметричные OH-группы, то в результате синтеза образуются два изомера, разделяемые только частично,

поэтому в исследовании модификации ДНК использовали смесь этих изомеров. Вторая OH-группа в ходе синтеза замещается на 2,4,6-триизопропилфенилсульфонильный остаток.



2,4-ди[α-Гидроксиэтокси]этилдейтеропорфирин IX, DDP **14**

Модификацию ДНК проводили в дуплексе **D12** в присутствии перекиси водорода. Было показано, что образуется несколько продуктов сшивки с общим выходом 37%, и с невысоким выходом (3%) происходит прямое селективное расщепление ДНК. Обработка реакционной смеси пиперидином приводила к исчезновению продуктов сшивки и селективному расщеп-

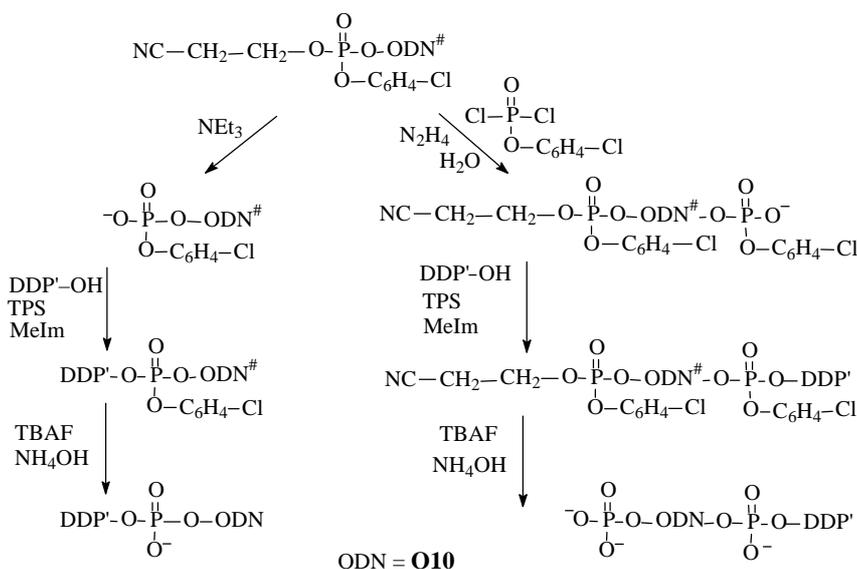


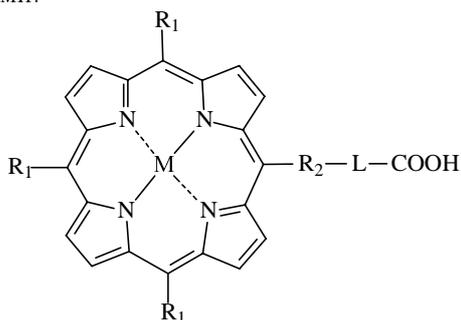
Схема 18

лению мишени по основаниям G¹⁷—G³⁴, G²⁷⁵ и G²⁷⁶ с общим выходом 67%.

Кинетические исследование модификации ДНК конъюгатом олигонуклеотида, содержащим дейтеро-порфирин **14**, в составе другого дуплекса проводили в работе [24]. Синтез конъюгата проводили методом, описанным в предыдущей работе [23] (схема 18).

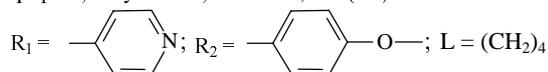
Для синтеза конъюгата **K32** использовали олигонуклеотид **O11**, комплементарный олигонуклеотиду мишени **M14** (рис. 1). Модификацию проводили в составе дуплекса **D13** в присутствии перекиси водорода. Было показано, что выход реакции модификации зависел от концентрации конъюгата и H₂O₂, причем оптимальным сочетанием были следующие концентрации: 1 · 10⁻⁵ М для реагента и 5 · 10⁻⁴ М для H₂O₂. В этом случае выход реакции модификации составлял 25%. Кроме того, было обнаружено, что реакционная группа **14** конъюгата **K32** деградирует в присутствии перекиси водорода.

Другой цикл работ посвящен конъюгатам, содержащим синтетические порфирины, несущие в трех мезо-положениях пиридилные **15** или N-метилпиридиниевые группы **16а-б**, а в четвертом мезо-положении — алифатическую карбоксильную группу, присоединенную через фенильный заместитель. В работе [25] описываются методики синтеза конъюгатов со следующими порфиринами и их комплексами с металлами:

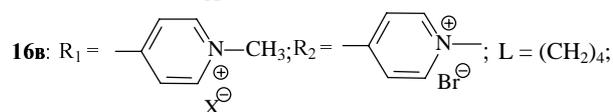
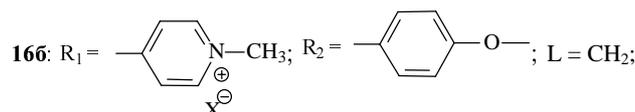
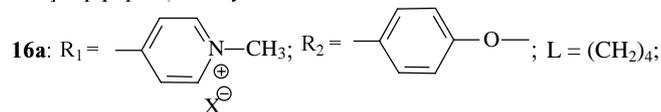


L — линкер

мезо-Трис(4-пиридил)[4-(4-карбоксил-бутокси)фенил]порфирин, TPyPor **15**, M = 2H, Mn(III)



мезо-Трис(4-N-метилпиридиний)[4-(карбоксилбутокси)фенил]порфирин, TMPyPor **16а**



для **16а-в** M = 2H, Mn(III), Ni(II), Cu(II), Co(II), Fe(III)

Синтез конъюгата олигонуклеотида с порфирином TPyPor **15** проводили через стадию образования эфира COOH-группы порфирина с 1-гидроксибензотриазолом НОВТ, который в дальнейшем реагировал с аминогруппой линкера, заранее присоединенного к 5'-концевому фосфату олигонуклеотида (схема 19). Выход синтеза составил 45%.

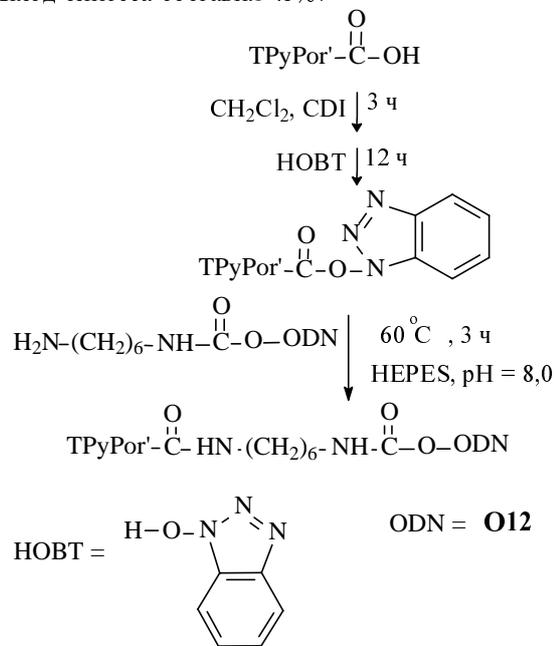


Схема 19

При синтезе конъюгатов олигонуклеотидов с порфирином TMPyPor **16а**, основным отличием от вышеописанного метода было введение в порфирин иона металла, которое проводили (после присоединения олигонуклеотида) со 100%-ным выходом (схема 20).

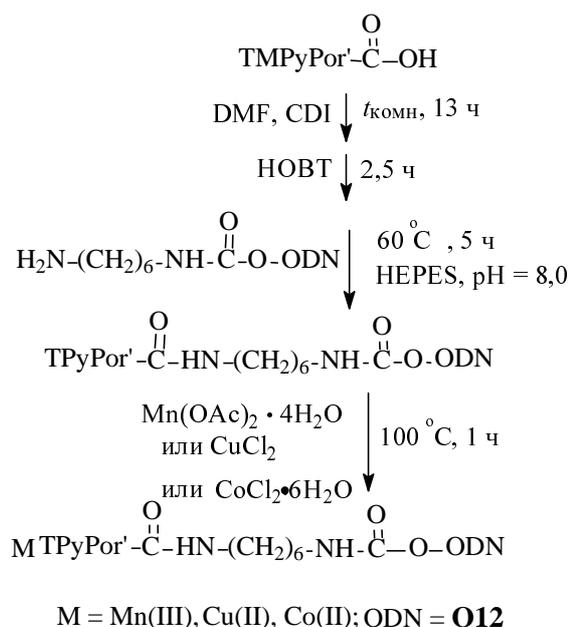


Схема 20

При синтезе конъюгатов, содержащих олигонуклеотид **O12**, исключение составил лишь никелевый (II) комплекс 4-N-метилпиридиниевого порфирина **16a**, который получали до синтеза с олигонуклеотидом (схема 21). Выход конъюгата составил около 80%. Конъюгат олигонуклеотида **O13** с комплексом порфирина **16a**, содержащим Mn(III), синтезировали также согласно схеме 21 с выходом 25%.

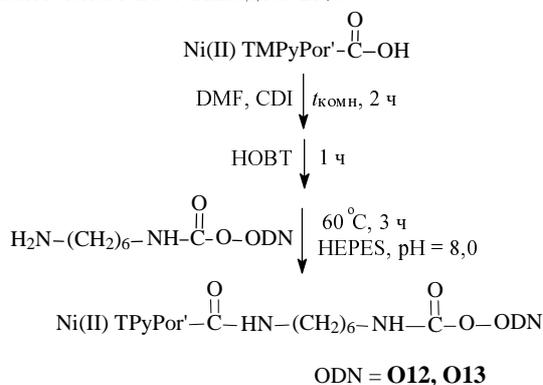


Схема 21

Для синтеза конъюгатов **K33—K38** (табл. 7) были использованы олигонуклеотиды **O12** и **O13**.

Конъюгат **K38** был испытан в качестве ДНК-расщепляющего реагента на мишени **M14**, содержащей иницирующий кодон *tat* гена HIV-1 [26]. Показано, что он эффективно расщепляет мишень в комплексе **D14** по основаниям T¹⁸—C²³ находящимся вблизи порфириновой группы.

Таблица 7

Структуры конъюгатов, содержащих порфирины 15 и 16a			
Конъюгат	Порфирин	Олигонуклеотид	Металл, М
K33	15	O12	2H
K34	16a	O12	Mn(III)
K35	16a	O12	Cu(II)
K36	16a	O12	Co(II)
K37	16a	O12	Ni(II)
K38	16a	O13	Mn(III)

В следующей работе авторов [27] был описан синтез и испытание конъюгатов олигонуклеотидов с порфирином **16a**. Синтез конъюгатов проводили согласно упомянутому выше методу синтеза (схема 21) с 30% выходом. В этом случае вместо 1-гидроксибензотриазола как активирующего соединения использовали 1-гидрокси-7-азабензотриазол и присоединение олигонуклеотидов проводили не в NEPES-, а в MOPS-буфере (pH = 7,5). В синтезе конъюгатов **K39** и **K40** использовали олигонуклеотиды **O13** и **O17** соответственно, а в качестве мишени — олигонуклеотид **M15** (рис. 1).

Модификацию мишени в дуплексах **D14** и **D15** проводили в присутствии свежеприготовленного раствора KHSO₅ в качестве окислителя [28]. Это соединение активировало порфирин, приводя к образованию оксокомплекса иона металла, находящегося в высшей степени окисления (+4 или +5). В этом случае окисление субстратов должно происходить путем переноса на субстрат атома кислорода в синглетном

состоянии. Такой механизм называется «оксеноидным» [29]. В настоящее время он постулируется для процессов с участием цитохрома P-450 [30], а также для противоопухолевого антибиотика блеомицина [31].

Различия в модификации мишени конъюгатами **K39** и **K40** не наблюдали. После обработки пиперидином были выявлены основания нуклеотидов, по которым проходило расщепление: T¹⁸ и G¹⁹—G²⁶. Общий выход реакции модификации составлял 50% при соотношении концентраций конъюгат/мишень 10 нМ/10 нМ, и 90% при отношении 100 нМ/10 нМ.

Синтез конъюгатов пептидоолигонуклеотида **O15**, содержащего *ado_n* (*n* = 1, 2, 3), с порфирином **16a** описан в работе [32], выход их достигал 80—90%. Синтез проводили через образование эфира при взаимодействии COOH-группы порфирина с 1-гидроксибензотриазолом, который в дальнейшем реагировал с аминогруппой PNA **O15** (схема 22).

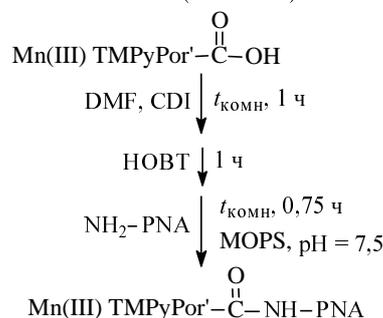


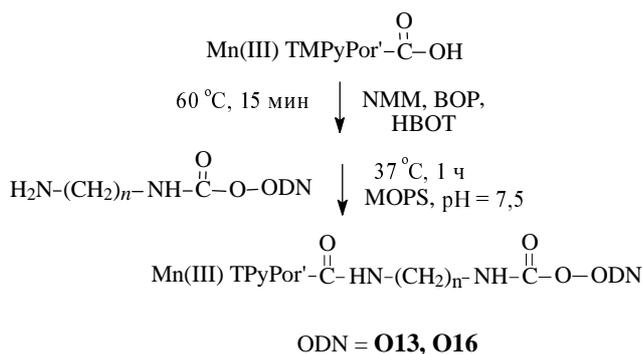
Схема 22

В качестве мишени использовали дуплекс, состоящий из олигонуклеотидов **M16a** и **M166** (рис. 1). Модификацию конъюгатом **K41** проводили в триплексе **T3** в присутствии KHSO₅. Были обнаружены прямые разрывы олигонуклеотидов-мишеней: по основаниям T¹²—T²³ для **M16a** и по основаниям G¹³, G¹⁶ и A¹⁷ для **M166** с общим выходом реакции модификации 10%. Было показано, что константа образования комплекса конъюгатом **K41** с олигонуклеотидом-мишенью в 100 раз выше, чем константа образования такого же комплекса неконъюгированной PNA.

Исследования влияния природы металла и длины линкера на эффективность модификации описано в работе [33] на примере конъюгатов олигонуклеотидов с трис(N-метилпиридиний)порфиринами. Синтез некоторых конъюгатов: **K42**, **K46** и **K47** проводили по вышеописанному методу (схема 22) с выходом 60—70%. Часть конъюгатов **K43—K44** синтезировали через образование бензотриазол-активированных эфиров при взаимодействии карбоксильной группы порфиринов с N-метилморфолином, бензотриазол-1-ил-окситрис(диметиламино)фосфонием (BOP) и HBOT. На второй стадии синтеза активированные эфиры вступали в реакцию с 5'-NH₂-группой линкера, ковалентно связанного с олигонуклеотидом. Выход реакции составил 40% для конъюгатов **K43** и **K45**, 30% для **K48** и только 10% для **K44** (схема 23).

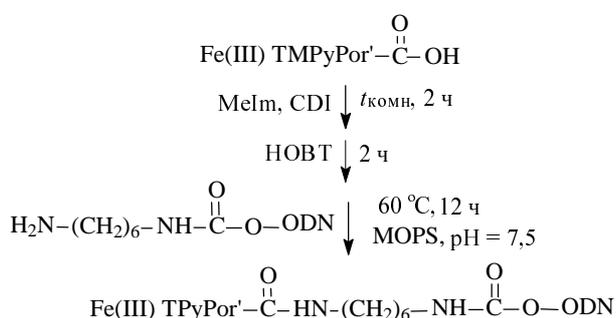
С небольшими отличиями был проведен синтез конъюгата **K49** олигонуклеотида с комплексом Fe(III)-порфирин (схема 24) с выходом 70%.

Для синтеза конъюгатов **K42—K46**, несущих линкеры различной длины (см. табл. 8), использовали



ODN = **O13, O16**

Схема 23



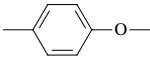
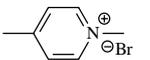
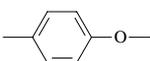
ODN = **O16**

Схема 24

олигонуклеотид **O13**, а для конъюгатов **K47—K49** (табл. 9) — олигонуклеотид **O16**. В качестве мишеней использовали 35-звенные последовательности частей кодонов *tat M17* и *rev M18* ДНК вируса иммунодефицита человека (HIV), содержащие последовательности, комплементарные олигонуклеотидам **O13** и **O16**, соответственно (рис. 1).

Изучение влияния длины и характера линкера на эффективность модификации проводили в комплексе **D16** конъюгатами **K42—K45** в присутствии KHSO_5 . Для всех конъюгатов были обнаружены прямые разрывы мишени по основаниям G^{19} и T^{18} , что свидетельствовало о частичной интеркаляции порфирина в малую бороздку ДНК. После обработки реакционных смесей пиперидином было выявлено усиление модификации по основанию G^{19} и была обнаружена модификация по G^{20} , G^{22} и G^{26} . Выход реакции составил 50% для конъюгатов **K44—K45**, 80% для конъюгата **K42** и 90% для конъюгата **K43**.

Структуры конъюгатов, содержащих порфирины 16а, в

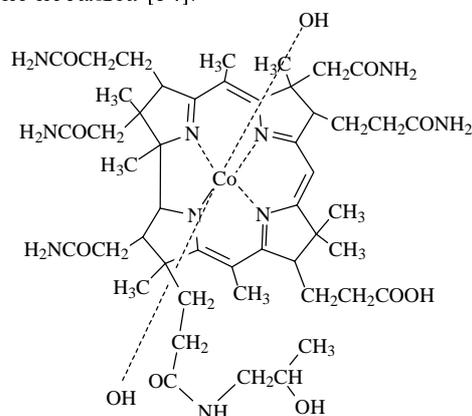
Конъюгат	R ₂	M	Олигонуклеотид
K47		Mn(III)	O16
K48		Mn(III)	O16
K49		Fe(III)	O16

Влияние числа положительных зарядов порфириновой группы на эффективность модификации изучали в комплексе **D17** на примере конъюгатов **K47** и **K48**. В обоих случаях выход модификации составил 75%, различия наблюдали только в профиле модификации. Конъюгат **K47** главным образом модифицировал мишень **M18** по основаниям G^{22} — G^{24} и в меньшей степени по G^{19} , G^{25} и G^{27} , тогда как в случае конъюгата **K48** основная модификация протекала по основанию G^{22} и незначительно по G^{19} , A^{21} , и G^{24} .

Сравнение реакции модификации конъюгатами **K47** и **K49**, имеющими разные координированные металлы, показало, что в случае соединения **K47** выход реакции был больше (75%), чем в случае **K49** (50%), то есть комплекс Mn(III) более эффективно катализировал окислительные мишени, чем комплекс Fe(III).

Корриновый комплекс кобальта

В качестве реакционноспособной группы в конъюгатах олигонуклеотидов был исследован корриновый комплекс кобальта [34]:



Корриновый комплекс кобальта, $e\text{-HOOC-Cbi(OH)}_2$

17

Структуры конъюгатов с порфиринами 16а, б, содержащие различные линкеры

Конъюгат	Линкер	M	Олигонуклеотид
K42	$-\text{O}-(\text{CH}_2)_4-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_6-\text{NH}-\text{CO}-\text{O}-$	Mn	O13
K43	$-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_6-\text{NH}-\text{CO}-\text{O}-$	Mn	O13
K44	$-\text{O}-\text{CH}_2-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{O}-$	Mn	O13
K45	$-\text{O}-(\text{CH}_2)_4-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_2-\text{NH}-\text{CO}-\text{O}-$	Mn	O13
K46	$-\text{O}-(\text{CH}_2)_4-\text{CO}-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-(\text{CH}_2)_4-\text{NH}-(\text{CH}_2)_3-\text{NH}-\text{CO}-\text{O}-$	Mn	O13

Один из предложенных методов синтеза заключался во взаимодействии Со-корриинового комплекса, содержащего свободную аминогруппу, с ω-аминоэнантовой кислотой, предварительно присоединенной к олигонуклеотиду (схема 25). Выход синтеза Со-корриинового производного составлял 25–30%.

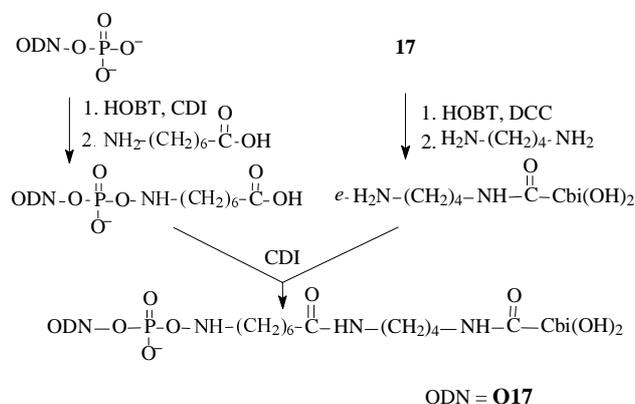


Схема 25

Во втором методе синтеза введение Со-корриинового комплекса по 5'-концу олигонуклеотида осуществляли в условиях стандартного автоматического фосфитамидного синтеза. Аминогруппу линкера, ковалентно связанную с олигонуклеотидом, находящимся на полимере, конденсировали со свободной карбоксильной группой Со-корриинового комплекса (схема 26). Гидролиз олигонуклеотидного производного для удаления с полимера и гидролиз защитных групп проводили по стандартной методике. Выход целевого продукта составлял 80–90%.

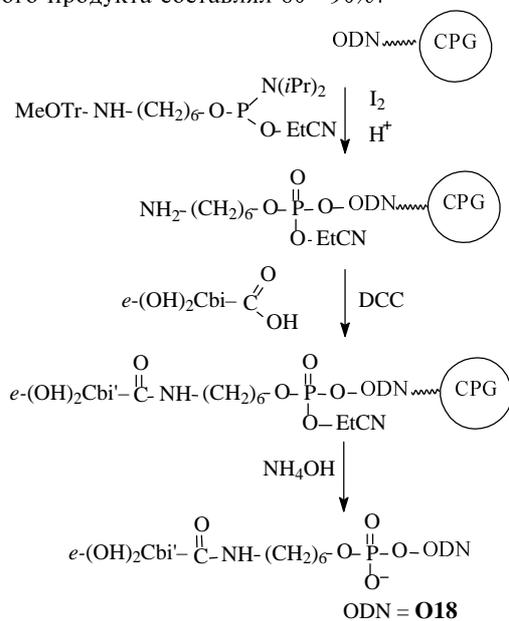


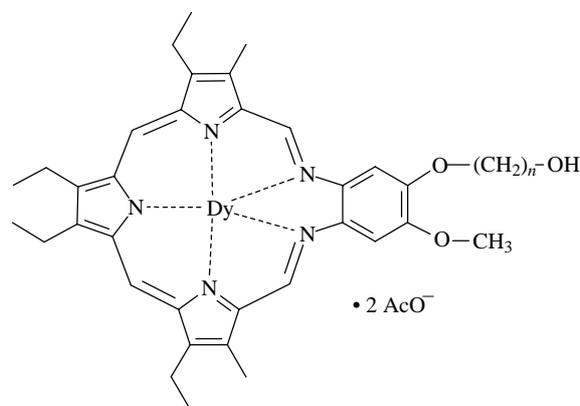
Схема 26

Для синтеза конъюгатов **K50** и **K51** использовали олигонуклеотиды **O17** и **O18**, полностью комплементарные участкам 13–26 и 17–27 5S рибосомальной РНК из *E. coli*, соответственно (рис. 1). А в качестве мишени фрагмент 42–120 5S рибосомальной РНК из *E. coli*.

Модификацию мишени проводили в составе неполных дуплексов **D18–D21**, образование которых возможно при использовании конъюгата **K51**. Было показано, что в присутствии аскорбиновой кислоты как сопряженного восстановителя, мишень модифицируется по основаниям, соответствующим частичной комплементарности **O18** фрагменту 42–120 5S РНК *E. coli*, с общим выходом реакции модификации 30–40%.

Комплексы тексафирина диспрозия(III)

Другой тип соединений, используемых для модификации ДНК, — группы с расширенным циклом. Синтез и испытание конъюгатов олигодезоксирибонуклеотидов с тексафирином диспрозия(III) описан в работе [35].



Тексафирин диспрозия(III), DyTx
18

Синтез конъюгатов проводили через фосфамидное производное тексафирина диспрозия(III), которое присоединяли к 5'-концу олигонуклеотида, полученного стандартным твердофазным методом. Выход продукта синтеза достигал 75% (схема 27).

Для синтеза конъюгатов использовали олигонуклеотид **O19**, комплементарный олигонуклеотиду — ми-

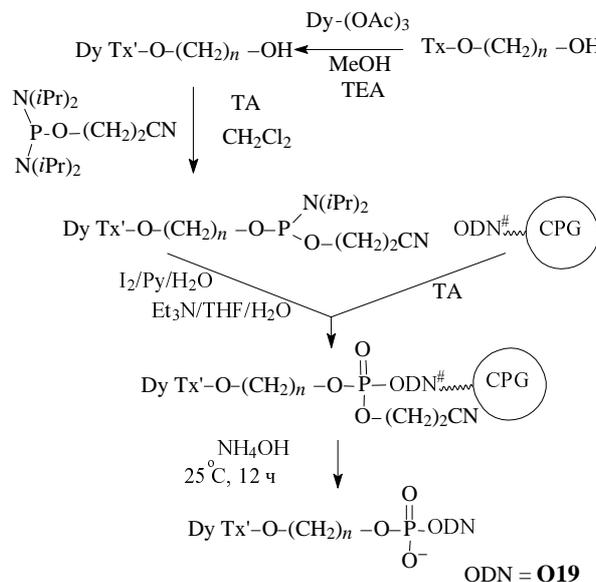


Схема 27

Структуры конъюгатов с тексафирином 18, содержащие различные линкеры

Конъюгат	Линкер	Тексафирин	X	Олигонуклеотид
K52	—CH ₂ —CO—NH—(CH ₂) ₆ —	18	CH ₂ OH	O19
K53	—(CH ₂) ₆ —	18	CH ₂ OH	O19
K54	—(CH ₂) ₆ —	18	H	O19
K55	—(CH ₂) ₃ —	18	CH ₂ OH	O19
K56	—(CH ₂) ₃ —	18	H	O19

шени **M20** (рис. 1). Модификацию проводили конъюгатами **K52—K56** (табл. 10) в составе дуплекса **D22** в присутствии дитиотреита как сопряженного восстановителя. Оказалось, что модификация в основном проходит по основаниям G²⁰ и A²¹. Было показано, что скорость реакции обратно пропорциональна длине линкера. Общий выход реакции составлял около 50% для конъюгата **K52** и порядка 70—80% **K53—K56**.

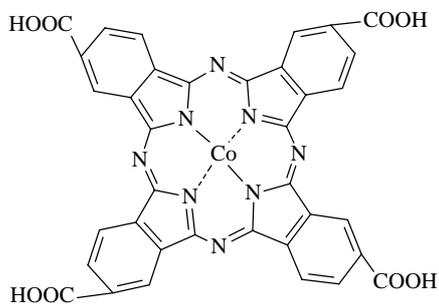
В работе [36] авторы синтезировали вышеописанным методом (см. схему 27) два различных конъюгата тексафирина диспрозия(III) с олигонуклеотидом, один из которых имел реакционную группу на 5'-конце, а у другого она была присоединена к глицириновому линкеру внутри олигонуклеотидной последовательности.

Для синтеза конъюгатов **K57** и **K58** использовали олигонуклеотиды **O19** и **O20**, соответственно, а в качестве мишени олигодезоксирибонуклеотид **M21** (рис. 1).

Модификацию проводили в составе дуплексов **D22** и **D23**, в присутствии дитиотреита как сопряженного восстановителя. Было показано, что мишень в основном подвергалась модификации по основаниям A²¹, A²² и G²³. Выход реакции модификации в обоих случаях составлял около 80%. Однако различия в степени модификации наблюдали при добавлении в систему 25-кратного избытка немеченой РНК: 5% в случае **K57** и 67% в случае **K58**.

Комплекс фталоцианина кобальта(II)

Использование фталоцианина кобальта(II) в качестве реакционной группы для синтеза конъюгатов с олигонуклеотидами описано в работах [17, 37].



Фталоцианин Co(II),
Co(II) Ptc

19

Синтез конъюгатов проводили в две стадии: на первой стадии синтеза к активированному 5'-концевому фосфату олигонуклеотида присоединяли этилендиаминовый линкер. На второй стадии свободная

аминогруппа линкера вступала в реакцию с N-оксисукцинимидным эфиром фталоцианина кобальта(II) (схема 28). Выход синтеза составлял около 30%.

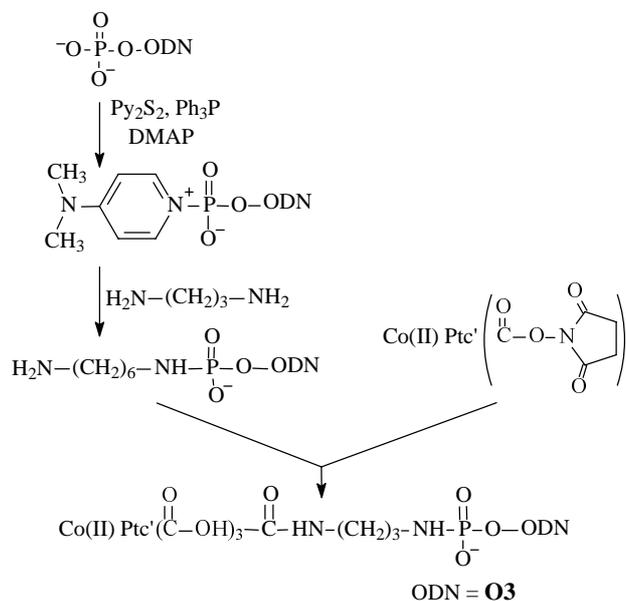


Схема 28

Для синтеза конъюгатов **K59** и **K60** использовали олигонуклеотид **O3**, а в качестве мишеней — олигонуклеотиды **M21** и **M3**, соответственно (рис. 1).

Модификацию мишеней проводили в составе дуплексов **D3** и **D24** в присутствии дитиотреита или 2-меркаптоэтанола в качестве сопряженных восстановителей, или в присутствии перекиси водорода. Прямых разрывов в мишени обнаружено не было, однако после обработки пиперидином были выявлены основные сайты модификации: G⁶, G⁸—G¹⁰ для **M21** и G¹¹ для **M3**. Предельная степень модификации в случае использования 2-меркаптоэтанола 15%, а в случае перекиси водорода — ~35%.

Заключение

Ингибирование экспрессии генов с помощью олигонуклеотидов и их аналогов и производных — один из путей химиотерапии онкологических и вирусных инфекций [1]. Введение в олигонуклеотиды химически активных групп позволяет воздействовать на нуклеиновые кислоты (ДНК и РНК) необратимым образом, тем самым усиливая биологический эффект этих соединений. Различные комплексы переходных металлов, способствующие окислительной деградации нук-

леиновых кислот с помощью фотосенсибилизированной или каталитической генерации активных кислородных частиц, исследовались в качестве одного из типов таких реакционноспособных группировок. Рассмотренные в настоящем обзоре методы синтеза конъюгатов олигонуклеотидов с порфиринами и их аналогами и результаты их исследования в качестве реагентов для модификации нуклеиновых кислот позволяют сделать заключение, что некоторые из этих конъюгатов могут вызывать эффективную и селективную модификацию нуклеиновых кислот. На основе этих соединений можно создавать новые препараты для химиотерапии онкологических и вирусных заболеваний.

Работа авторов данного обзора поддержана грантами РФФИ (№ 02-04-48080, 05-04-48447), грантом поддержки ведущих научных школ (НШ-1419.2003.4), грантом Администрации Новосибирской области на выполнение проекта «Разработка методов повышения селективности фотосенсибилизаторов на основе производных фталоцианина» и грантом CRDF NO-008-X1.

ЛИТЕРАТУРА

- Knorre D.G., Vlassov V.V., Zarytova V.F. e. a. Design and targeted reaction of oligonucleotide derivatives. Boca Raton: CRC Press Inc., FL, 1994.
- Belikova A.M., Zarytova V.F., Grineva N.I. Tetrahedron Lett., 1967, v. 8, p. 3557–3562.
- Antisense Research and Applications. Eds. S.N. Crooke, B. Lebleu. Boca Raton: CRC Press Inc., FL, 1993.
- Calvin E., Mark E., Fiel R., Howard J. C. Nucleic Acids Res., 1983, v. 11, p. 6141–6154.
- Bernadou J., Pratiel G., Bennis F. e. a. Biochemistry, 1989, v. 46, p. 663–667.
- Battiroli G., Ramponi R., Croce A. C. Photochem. Photobiol., 1987, v. 28, p. 7268–7275.
- Kochevar I., Dunn D. A. In: Bioorganic Photochemistry. Ed. H. Morrison, New York: John Wiley & Sons, 1990, v. 1, p. 273–315.
- Dolphin D. Canad. J. Chem., 1994, v. 72, p. 1005–1013.
- Fedorova O.S., Savitskii A.P., Shoikhet K.G., Ponomarev G.V. FEBS Lett., 1990, v. 259, p. 335–337.
- Kearns D.R. Chem. Rev., 1971, v. 71, p. 395–427.
- Mastruzzo L., Woisard A., Ma D.D.F. e. a. Photochem. Photobiol., 1994, v. 60, p. 316–322.
- Li H., Fedorova O.S., Trumble W.R. e. a. Bioconjugate Chem., 1997, v. 8, p. 49–56.
- Boutorine A.S., Brault D., Tarasugi M. e. a. J. Am. Chem. Soc., 1996, v. 118, p. 9469–9476.
- Magda D., Wright M., Miller R. A. e. a. Ibid., 1995, v. 117, p. 3629–3630.
- Sessel J.L., Sansom P.I., Kral V. e. a. Ibid., 1996, v. 118, p. 12322–12330.
- Лукьянец Е.А. Рос. хим. ж. (Ж. Рос. хим. об-ва им. Д.И. Менделеева), 1998, т. 42, с. 9–16.
- Koval V., Chernonosov A., Abramova T. e. a. Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids, 2001, v. 20, p. 1259–1262.
- Вольпин М.Е., Крайнова Н.Ю., Москалева И.В. и др. Изв. АН, Сер. хим., 1996, т. 8, с. 2105–2111.
- Le Doan T., Perrouault L., Helene C. e. a. Biochemistry, 1986, v. 25, p. 6736–6739.
- Le Doan T., Perrouault L., Chassignol M. e. a. Nucleic Acids Res., 1987, v. 15, p. 8643–8659.
- Иванова Е.М., Мамаев С.В., Фёдорова О.С., Фролова Е.И. Биоорг. химия, 1988, т. 14, с. 551–554.
- Frolova E.I., Ivanova E.M., Zarytova V.F. e. a. FEBS Lett., 1990, v. 269, p. 101–104.
- Фролова Е.И., Иванова Е.М., Комарова Н.И. и др. Там же, 1993, т. 19, с. 439–454.
- Frolova E.I., Fedorova O.S., Knorre D.G. Biochimie, 1993, v. 75, p. 5–12.
- Casas C., Lacey C. J., Meunier B. Bioconjugate Chem., 1993, v. 4, p. 366–371.
- Pitie M., Casas C., Lacey J. e. a. Angew. Chem. Int. Engl. Ed., 1993, v. 32, p. 557–559.
- Mestre B., Pratiel G., Meunier B. Bioconjugate Chem., 1995, v. 6, p. 466–472.
- Bernadou J., Fabiano A. S., Robert A., Meunier B. J. Am. Chem. Soc., 1994, v. 116, p. 9375–9376.
- Hamilton G.A., Giacini J.R., Hellman T.M. e. a. Ann. N. Y. Acad. Sci., 1973, v. 212, p. 4–12.
- Estabrook R.W., Hildebrandt A.G., Baron J. e. a. Biochem. Biophys. Res. Commun., 1971, v. 42, p. 132–139.
- Murugesan N., Hecht S. M. J. Am. Chem. Soc., 1985, v. 107, p. 493–500.
- Bigey P., Sonnichsen S.H., Meunier B., Nielsen P.E. Bioconjugate Chem., 1997, v. 8, p. 267–270.
- Mestre B., Jakobs A., Pratiel G., Meunier B. Biochemistry, 1996, v. 35, p. 9140–9149.
- Беликов В.М., Крынецкая Н.Ф., Волков Е.М. и др. Биоорг. химия, 1995, т. 21, с. 446–453.
- Magda D., Crofts S., Lin A. e. a. J. Am. Chem. Soc., 1997, v. 119, p. 2293–2294.
- Magda D., Wright M., Crofts S. e. a. Ibid., 1997, v. 119, p. 6947–6948.
- Коваль В.В., Чернонос А.А., Абрамова Т.В. и др. Биоорг. химия, 2000, т. 26, с. 118–125.