

Синтез (2'-5')-триаденілатів та їхніх аналогів з використанням O-нуклеофільного каталізу реакції міжнуклеотидної конденсації

І. Я. Дубей, Л. В. Дубей

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03680, Україна
e-mail: dubey@imbg.org.ua

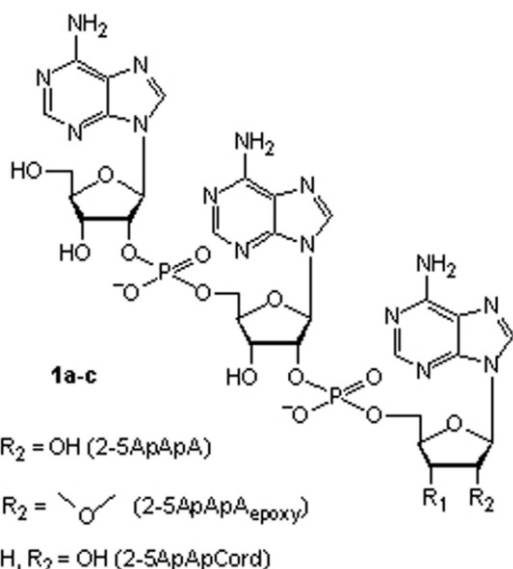
Проведено синтез (2'-5')-триаденілату та його аналогів, що містять 3'-кінцевий залишок епоксиденозину та кордицепіну, фосфотриєфірним методом у присутності O-нуклеофільного каталізатора реакції конденсації – N-оксиду 4-етоксипіридину (ЕРО). Реакції конденсації проходили з високою швидкістю (до 5 хв) та значним виходом (86–92 %). Виходи реакцій у присутності N-метилімідазолу були помітно нижчими (80–85 %), а сумарний вихід триаденілатів у цьому випадку становив 21–25 % проти 29–35 % при використанні ЕРО.

Ключові слова: (2'-5')-олігоаденілати, аналоги олігонуклеотидів, фосфотриєфірний синтез, нуклеофільний каталіз, N-оксиди піридинів.

Вступ. (2'-5')-Олігоаденілати (2-5А) відіграють ключову роль у механізмі противірусної дії інтерферону. 2-5А важливі у процесах клітинного росту і диференціації, апоптозу, патогенезі діабету й атеросклерозу і можуть бути перспективними препаратами в онкології та гематології [1–5]. На жаль, природні (2'-5')-олігоаденілати 1а (рисунок) швидко розпадаються в клітині під дією фосфодієстераз. Аналоги 2-5А, які містять хімічні модифікації, у тому числі такі, що підвищують стійкість до нуклеаз, часто мають вищу біологічну активність. Отримано велику кількість аналогів 2-5А, модифікованих по вуглеводних залишках, міжнуклеотидних фосфатах та гетероциклічних основах [1, 2, 6–12]. Так, триаденілат 1b, модифікований епоксиденозином, є інгібітором відторгнення тканин після трансплантації [12] та має кардіопротекторні властивості [13]. Аденілат 1а та його аналог 1b стимулюють проліферацію стовбурових клітин кісткового мозку та впливають на їхній апоптоз [14].

Раніше показано, що ці олігоаденілати в клітині тісно пов'язані з системою цАМФ (циклічний аденозинмонофосфат) [15]. Аналогам типу 1с, що містять кордицепін (3'-дезоксиденозин), притаманна антивірусна активність, у тому числі щодо вірусу HIV-1 [16, 17]. Механізм їхньої противірусної дії включає активацію РНКазі L [17], інгібування зворотної транскриптази [16] та ДНК-полімерази [17]. Антипроліферативна дія кордицепінових аналогів 2-5А пов'язана з активацією природних клітин-кілерів [18] та активністю нуклеозидів – метаболітів «корових» олігомерів [19].

Найчастіше (2'-5')-олігоаденілати отримують одним із варіантів фосфотриєфірного синтезу в розчині, хоча твердофазний фосфітамідний підхід теж застосовують для їхнього синтезу в невеликих кількостях [1, 2]. Конденсуєчими реагентами у фосфотриєфірному методі виступають, як правило, арилсульфохлориди та нітротріазоліди в присутності каталізаторів N-метилімідазолу чи тетразолу. N-оксиди піридинів, особливо ті, які містять -електронодонорні групи в пара-положенні, є так звані-



Структура триаденілатів

ми гіпернуклеофілами та ефективно каталізують реакції переносу ацильних, фосфорильних і сульфогруп [20]. Раніше реагенти на основі N-оксидів запропоновано для каталізу реакцій конденсації в синтезі олігодезоксирибонуклеотидів [21–23]. У даній роботі вперше описано синтез 2-5A за допомогою O-нуклеофільного каталізу. Нами розроблено ефективний метод одержання (2'-5')-триаденілатів та їхніх аналогів 1a–c фосфотриєфірним методом з використанням каталізатора реакцій конденсації N-оксиду 4-етоксипіридину (ЕРО).

Матеріали і методи. В експериментах використано аденозин («Fluka», ФРН), 4,4'-диметокситриетилхлорид, 2,4,6-триізопропілбензолсульфохлорид (TPSCI), триметилхлорсилан, 2-хлорфенілдихлорфосфат, 2-нітробензальдоксим («Aldrich», США). Інші реагенти та розчинники виробництва «Макрохім» (Україна). Ацетонітрил переганяли над P_2O_5 та гідридом кальцію, піридин – над NaOH, нінгідрином і CaH_2 . Спектри ^1H ЯМР записували на спектрометрі Bruker WM-300 (300 МГц, внутрішній стандарт тетраметилсилан), УФ-спектри – на спектрофотометрі Specord UV-Vis («Carl Zeiss Jena», ФРН). Мас-спектри отримували на приладі Perkin-Elmer SCIEX API-100, використовуючи техніку електровпорскування (electrospray ionization mass spectrometry, ESI-MS) з детекцією позитивних іонів. Тонкошарову хроматографію (ТШХ)

здійснювали на пластинках Silicagel 60F254 («Merck», ФРН) у системах хлороформ:метанол, 9:1 (А) та ізопропанол:конц. NH_3 :вода, 5:1:2 (Б). Високоєфективну рідинну хроматографію (ВЕРХ) проводили на системі Waters (США), обладнаній детектором DAD-440 Kontron, на колонці Nucleosil-C18 (10 мкм, 250 × 4,6 мм, «Interchrom», Франція) у градієнті концентрації (5–40 %) CH_3CN в 0,1 М триетиламоніацетатному буфері (pH 6,5). ЕРО синтезували згідно з [24, 25]. Нуклеотидний компонент 2 отримували фосфорилуванням 6-N,3'-O-добензоїл-5'-O-диметокситриетиладенозину [26, 27] o-хлорфенілфосфодитриазолідом стандартним методом [28].

6-N-Бензоїл-9-(2,3-ангідро-*D*-рибофуранозил)аденін (3b). 2',3'-Ангідроаденозин [29] (498 мг, 2 ммоль) упарили з сухим піридином (2–5 мл), розчинили в 10 мл цього ж розчинника і додали триметилхлорсилан (762 мкл, 6 ммоль). Суміш перемішували протягом 5 год за кімнатної температури, додали 464 мкл хлористого бензоїлу (4 ммоль) і залишили на ніч. Охолодили суміш до $\sim 5^\circ\text{C}$, додали 2 мл води, а через 10 хв – 4 мл 25 %-го водного розчину аміаку. Через 15 хв упарили, залишок упарили з 5 мл піридину. Додали 50 мл хлороформу, осад відфільтрували, промили CHCl_3 (2 × 10 мл), фільтрат упарили. Продукт виділили хроматографією на силікагелі в градієнті концентрації 0–8 % метанолу в хлороформі. Продукт 3b кристалізували з етанолу. Отримали 522 мг білого порошку (74 %). $T_{\text{пл}}$ 186–187 °C (за даними [12] – 185–188 °C). ^1H ЯМР ($\text{DMSO-}d_6$): 11,20 (уш. с., 1H, NH), 8,77 (с, 1H) та 8,65 (с, 1H) (H-2, H-8), 8,06 (д, J = 6,9 Hz, 2H, Bz), 7,5–7,7 (м, 3H, Bz), 6,35 (с, 1H, H-1'), 5,06 (м, 1H, 5'-OH), 4,57 (уш. с., 1H, H-2'), 4,26 (м, 2H, H-3', H-4'), 3,56 (м, 2H, H-5', 5''). Знайдено, %: C 57,46, H 4,38, N 20,05. Обчислено для $\text{C}_{17}\text{H}_{15}\text{N}_5\text{O}_4$, %: C 57,80, H 4,28, N 19,72.

Аденіліл-(2'-5')-аденіліл-(2'-5')-(2',3'-ангідроаденозин) (1b): синтез з використанням ЕРО. Р-компонент 2 (1,34 г, 1,25 ммоль), ОН-компонент 3b (353 мг, 1 ммоль) та ЕРО (1,31 г, 9,4 ммоль) упарили з сухим піридином (2–10 мл), розчинили в 10 мл сухого піридину і додали TPSCI (948 мг, 3,13 ммоль). Через 5 хв суміш розбавили 50 мл хлороформу, промили водним розчином NaHCO_3 (2

30 мл) і водою (30 мл), органічний шар висушили над безводним Na_2SO_4 і упарили у вакуумі. Надлишок піридину видалили упарюванням з толуолом (2–10 мл). Динуклеотид 4b виділили хроматографією на силікагелі у градієнті концентрації (0–3 %) метанолу у хлороформі. Одержали 1,18 г димеру 4b (91 %). Розчинили його в 75 мл 2 %-го розчину п-толуолсульфоїкислоти (TsOH) у суміші хлороформ:метанол, 7:3. Через 5 хв суміш розбавили 50 мл хлороформу, промили водним розчином NaHCO_3 (3–50 мл) і водою (50 мл), органічний шар висушили над Na_2SO_4 та упарили. Детритильований димер 5b виділили хроматографією на силікагелі у градієнті концентрації (0–3 %) метанолу в хлороформі, одержавши 820 мг (90 %) продукту. 820 мг 5b (0,82 ммоль), 1,10 г Р-компонента 2 (1,03 ммоль) та 1,08 г ЕРО (7,74 ммоль) упарили з абсолютним ацетонітрилом (2–10 мл), розчинили в 10 мл цього розчинника і додали 782 мг TPSCl (2,58 ммоль). Через 5 хв розбавили 50 мл хлороформу, промили водним розчином NaHCO_3 (2–25 мл) і водою (25 мл), органічний шар висушили над Na_2SO_4 і упарили. Хроматографували на силікагелі у градієнті концентрації (0–3 %) метанолу в хлороформі, виділивши 1,38 г повністю захищеного тримеру (86 %). Його розчинили в 75 мл 2 %-го розчину TsOH (хлороформ:метанол, 7:3). Через 5 хв суміш обробили, як описано вище, і виділили детритильований тример хроматографією на силікагелі у градієнті (0–3,5 %) MeOH у хлороформі, отримавши 1,03 г продукту (0,62 ммоль, 88 %). Додали 2,08 г 2-нітробензальдоксиму (12,5 ммоль) і по 30 мл діоксану, триетиламіну і води, витримали розчин при кімнатній температурі протягом ночі. Суміш упарили, залишок упарили з 10 мл піридину і обробили 100 мл ефіру. Осад відфільтрували, промили ефіром, висушили у вакуумі, розчинили в 50 мл конц. водного аміаку і витримали упродовж 48 год при кімнатній температурі. Розчин упарили, до залишку додали по 20 мл ефіру та 0,01 М триетиламонійбікарбонату (TEAB, pH 7,5), водний шар відділили. Тример 1b виділили хроматографією на сорбенті Molselect DEAE-25 («Reanal», Угорщина) в HCO_3^- -формі у градієнті концентрації (0,01–0,3 М) TEAB (pH 7,5). Потрібні фракції упарили у вакуумі, далі упарили з етанолом (3–20 мл). Залишок розчинили в мінімальному

об'ємі етанолу та осадили в насичений розчин йодиду калію в ацетоні (200 мл). Калієву сіль відфільтрували, промили ацетоном (5–5 мл) і висушили. Одержали 344 мг 1b (0,35 ммоль). Вихід після деблокування склав 56 %, сумарний вихід 35 % у розрахунку на вихідний ОН-компонент 3b. R_f 0 (А), 0,72 (Б). УФ (H_2O): λ_{max} 259 нм ($\epsilon = 3,73 \cdot 10^4$). ESI-MS: m/z 908,3 [(M+H)⁺].

Аденіліл-(2'-5')-аденіліл-(2'-5')-аденозин (1a): синтез з використанням MeIm. 1,45 г (2,50 ммоль) ОН-компонента 3a, 3,34 г (3,13 ммоль) Р-компонента 2 та 2,24 мл (28 ммоль) MeIm упарили з сухим піридином (2–20 мл), розчинили в 30 мл сухого піридину та додали 2,85 г TPSCl (9,4 ммоль). Через 15 хв суміш обробили, як описано для 1a. Захищений динуклеотид 4a виділили хроматографією на силікагелі у градієнті концентрації (0–2 %) метанолу в хлороформі, отримавши 3,40 г (2,08 ммоль, 83 %) 4a. Розчинили його в 200 мл суміші CHCl_3 :MeOH, 7:3, додали 3,95 г TsOH (20,8 ммоль) і витримали суміш протягом 5 хв. Після стандартної обробки реакційної суміші продукт виділили хроматографією в градієнті (0–2 %) метанолу в CHCl_3 . Отримали 2,34 г (1,76 ммоль, 85 %) детритильованого димеру 5a. До нього додали 2,35 г Р-компонента 2 (2,2 ммоль, 1,25 екв.), 1,58 мл метилімідазолу (19,8 ммоль) і упарили суміш з абсолютним CH_3CN (2–20 мл), розчинили в 30 мл цього розчинника і додали 2,0 г TPSCl (6,6 ммоль). Через 15 хв суміш обробили, як описано вище. Хроматографією в градієнті (0–2 %) MeOH у хлороформі отримали 3,21 г (1,41 ммоль, 80 %) повністю захищеного тримеру, який детритильовали обробкою 2,68 г TsOH (14,1 ммоль) в 150 мл суміші CHCl_3 :MeOH, 7:3. Через 5 хв обробили суміш, як описано вище, і хроматографією в градієнті концентрації (0–2 %) метанолу в CHCl_3 виділили детритильований тример (2,32 г, 1,17 ммоль, 83 %). Продукт розчинили в суміші діоксан:конц. NH_3 , 2:3 (100 мл) та витримали протягом 3 діб при кімнатній температурі. Розчин упарили, залишок обробили 25 мл 0,01 М TEAB (pH 7,5) та 25 мл CHCl_3 . Водний шар відділили. Продукт виділили іонообмінною хроматографією та перевели в калієву сіль, як описано для 1b. Отримали 632 мг 1a (0,63 ммоль). Вихід деблокування був 54 %, загальний вихід – 25 % віднос-

но ОН-компонента 3а. R_f 0 (А), 0,70 (Б). λ_{\max} (H₂O) 259 нм ($\epsilon = 3,76 \cdot 10^4$). ESI-MS: m/z 926,4 [(M+H)⁺].

Аденіліл-(2'-5')-аденіліл-(2'-5')-(3'-дезоксиаденозин) (1с). Кордицепіновий аналог отримували обома описаними вище методами з використанням нуклеофільних каталізаторів ЕРО або MeIm. R_f 0 (А), 0,71 (Б). λ_{\max} (H₂O) 259 нм ($\epsilon = 3,75 \cdot 10^4$). ESI-MS: m/z 910,3 [(M+H)⁺].

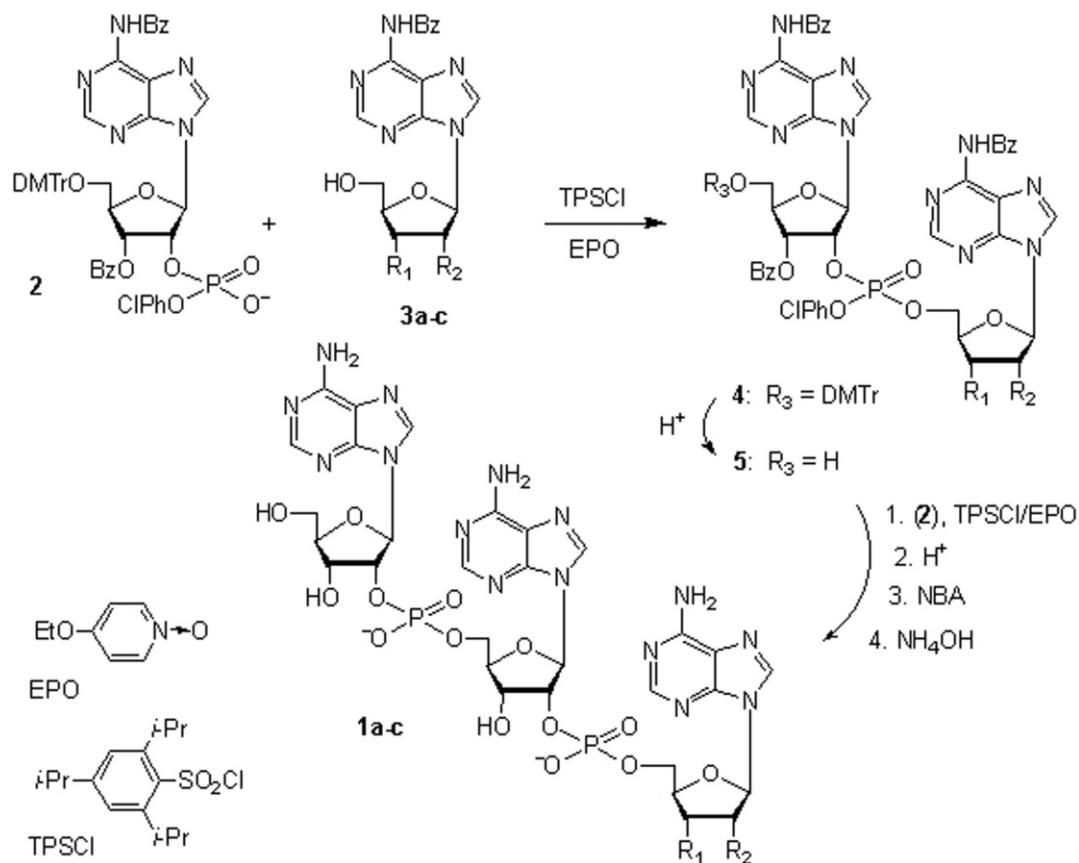
Результати і обговорення. О-Нуклеофільний каталіз реакцій конденсації в олігонуклеотидному синтезі має низку переваг порівняно з традиційним N-нуклеофільним каталізом реагентами типу метилімідазолу. В першу чергу, це набагато вища швидкість конденсації, а також нижчий рівень протікання побічних реакцій як результат низької основності реагентів. N-оксиди значно слабші основи, ніж відповідні їм піридини ($pK_a = 4-6$), і при цьому вони в 50–100 разів більш реакційноздатні каталізатори [20]. Раніше продемонстровано високу ефективність О-нуклеофільного каталізу в синтезі олігодезоксирибонуклеотидів. Тут досягається практично кількісне протікання конденсації за 2–3 хв проти 10–15 хв при каталізі метилімідазолом [21] (у разі внутрішньомолекулярного каталізу швидкість ще вища [22, 23]). Для отримання досить лабільних олігорибонуклеотидів важливим є проведення синтезу в якомога м'якших умовах, що можуть забезпечити саме О-нуклеофільні каталізатори, які поєднують високу нуклеофільність з низькою основністю. У цій роботі О-нуклеофільний каталіз застосовано в синтезі триаденілату 1а та його аналогів, що містять на 3'-кінці епоксигрупу чи залишок кордицепіну (1b, 1с).

Тринуклеотиди 1а–с синтезували модифікованим фосфотриєфірним методом у розчині (схема). Як нуклеотидний компонент усіх синтезів використовували 6-N,5',3'-О-захищений фосфодієфір 2. Для його одержання 5'-О-диметокситритил-N-бензоїладенозин селективно бензоїлювали по 3'-гідроксилу [26, 27], а 2'-гідроксильну групу 3'-бензоату фосфорилували о-хлорфенілфосфодитриазолідом в ацетонітрилі [28]. ОН-компонентами були відповідні захищені нуклеозиди 3а–с. У синтезі природного тримеру 1а 3'-кінцевим нуклеозидом був захищений аденозин 3а, а в синтезі кордицепінового аналога 2-5А – 3'-О,N-захищений

кордицепін 3с, які отримували відомими методами хімії нуклеозидів. ОН-компонентом синтезу епоксиди-2-5А слугував N-захищений 2',3'-ангідроаденозин 3b. Для його одержання 2',3'-ангідроаденозин [29] селективно бензоїлювали по екзоциклічній аміногрупі за методом тимчасового силільного захисту [28]. При цьому як силілувальний реагент застосовано триметилхлорсилан, тоді як у патенті [12] з аналогічною метою використано дорожчий гексаметилдисилазан.

Синтез триаденілатів на основі синтонів 2 та 3а–с здійснювали за допомогою активуючого реагенту TPSCl (2,5 екв. відносно Р-компонента) та каталізатора конденсації ЕРО [21]. У реакцію вводили 3 екв. N-оксиду відносно TPSCl та 25 %-й надлишок Р-компонента відносно нуклеозидного компонента. Реакції проводили в піридині та ацетонітрилі. В ацетонітрилі здійснювали другу конденсацію, першу ж проводили в піридині у зв'язку з недостатньою розчинністю вихідних нуклеозидів у СН₃CN. Реакції конденсації протікали швидко (до 5 хв) та з високим виходом. Диметокситритильну групу відщеплювали *n*-толуолсульфоюкислотою. На всіх етапах продукти виділяли хроматографією на силікагелі. Деблокування детритильованого епокситримеру здійснювали в дві стадії: обробляли його 0,15 М розчином 2-нітробензальдоксиму (NBA) в суміші діоксан:триетиламін:вода, 1:1:1 (10 екв. оксиму на фосфатну групу) для видалення хлорфенільних фосфатзахисних груп [28, 30], після чого О- та N-бензоїльні групи відщеплювали амонізом. Як показали експерименти, епоксигрупа 2',3'-ангідроаденозину стійка як до дії оксимату, так і в процесі амонілізу.

В «Матеріалах і методах» наведено методику синтезу епоксипохідної 1b з використанням ЕРО. Природний тример 1а та його аналог 1с, що містить 3'-кінцевий кордицепіновий залишок, синтезували аналогічно. В усіх випадках спостерігались висока швидкість та вихід реакцій конденсації. Фінальне деблокування 1а та 1с проводили в одну стадію без оксиматної обробки, використовуючи тільки амонізіт детритильованих тримерів. Додаткова обробка оксиматом спричинювала лише незначне підвищення виходу деблокованих олігомерів (це стосується і синтезу епоксиданалога 1b). Після повного



видалення захисних груп тримери 1a–c очищали аніонообмінною хроматографією на сорбенті Molselect DEAE-25 у градієнті концентрації (0,01–0,3 М) TEAB (pH 7,5). Калієві солі (2'-5')-триаденілатів отримували переосадженням етанольних розчинів триетиламонійних солей тримерів у розчин йодиду калію в ацетоні. Вихід тримерів 1a–c становив 29–35 % у розрахунку на відповідний вихідний нуклеозидний компонент 3a–c.

Для порівняння тримери 1a–c отримали також класичним методом [31] з використанням конденсуючого реагенту TPSCI та N-нуклеофільного каталізатора конденсації метилімідазолу. В експериментальній частині репрезентовано методику синтезу природного тримеру 1a. Синтез 1a–c за допомогою MeIm в цілому проводили, як описано нами раніше [14]. На всіх стадіях використовували ті ж реагенти, їхні концентрації та співвідношення, що і в синтезі відповідних тримерів, каталізованому EPO. За тих же умов синтезу метилімідазол забезпечує помітно нижчі виходи реакцій конденсації

(до 85 %) і сумарні виходи кінцевих олігомерів (21–25 %) порівняно з EPO. Проведення реакцій за присутності MeIm веде до утворення менш «чистих» реакційних сумішей, при цьому час повного протікання реакцій конденсації у кілька разів більший (10–15 хв). Отже, загальна ефективність синтезу 2-5A при використанні каталізу N-оксидом виявляється суттєво вищою, ніж у разі MeIm.

Дані щодо виходів окремих реакцій конденсації та кінцевих продуктів синтезів, проведених за різних умов, наведено в таблиці. Всі триаденілати – білі порошки, розчинні у воді та практично нерозчинні в органічних розчинниках. Чистота препаратів, отриманих обома способами, становила 95–96 %, за даними обернено-фазової ВЕРХ. Їхні структури підтверджено мас-спектрометричним аналізом (ESI-MS).

Таким чином, використання O-нуклеофільного каталізу реакції міжнуклеотидної конденсації у фосфотриєфірному синтезі олігорибонуклеотидів дозволило досягти високої швидкості і виходу ре-

Виходи окремих реакцій конденсації та загальні виходи (2'-5')-тринуклеотидів

Препарат	Вихід, %					
	Синтез з EPO			Синтез з MeIm		
	Перша конденсація	Друга конденсація	Загальний	Перша конденсація	Друга конденсація	Загальний
2-5ApApA (1a)	90	87	31	83	80	25
2-5ApApA _{ероку} (1b)	91	86	35	85	81	24
2-5ApApCord (1c)	92	88	29	82	83	21

акцій конденсації та загальної ефективності синтезу. Ефективність даного реагенту в синтезі (2'-5')-олігоаденілатів суттєво перевищує таку класичного нуклеофільного катализатора хімії нуклеїнових кислот *N*-метилімідазолу.

Автори щиро вдячні академіку НАН України Г. Х. Мацуці за участь в обговоренні результатів, З. Ю. Ткачуку (ІМБІГ НАН України) – за наданий зразок кордицепіну, д-ру С. Рішельм (Dr. Suzy Richelme, Service de Spectrometrie de Masse, Universite Paul Sabatier, Toulouse, France) – за проведення мас-спектрометричного аналізу препаратів.

I. Ya. Dubey, L. V. Dubey

Synthesis of (2'-5')-tradenylate and their analogues using O-nucleophilic catalysis of internucleotide coupling reaction

Summary

(2'-5')-tradenylate and its analogues containing 3'-terminal epoxyadenosine or cordycepin residue were obtained by phosphotriester approach in the presence of 4-ethoxy pyridine *N*-oxide (EPO) as O-nucleophilic catalyst of coupling reaction. The coupling reactions proceeded with high speed (below 5 min) and efficiency (yield 86–92 %). The reaction yields achieved in the presence of *N*-methylimidazole were substantially lower (80–85 %), and the final yields of triadenylates were only 21–25 %, as compared to 29–35 % obtained with *N*-oxide.

Keywords: (2'-5')-oligoadenylates, oligonucleotide analogues, phosphotriester synthesis, nucleophilic catalysis, pyridine *N*-oxides.

И. Я. Дубей, Л. В. Дубей

Синтез (2'-5')-триаденілатів та їх аналогів з використанням О-нуклеофільного катализа реакції міжнуклеотидної конденсації

Резюме

Осуществлен синтез (2'-5')-триаденілата и его аналогов, содержащих 3'-концевой остаток эпоксиаденозина и кордицепина, фосфотриэфирным методом в присутствии О-нуклеофільного катализатора реакції конденсації –

N-оксида 4-этоксипиридина (EPO). Реакции конденсації проходили с высокой скоростью (до 5 мин) и выходом (86–92 %). Выходы реакций в присутствии *N*-метилімідазола были заметно ниже (80–85 %), а суммарный выход триаденілатов в этом случае составлял 21–25 % против 29–35 % при использовании EPO.

Ключевые слова: (2'-5')-олігоаденілати, аналоги олигонуклеотидов, фосфотриэфирний синтез, нуклеофільний катализ, *N*-оксиди пиридинів.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Player M. R., Torrence P. F. The 2-5A system: modulation of viral and cellular processes through acceleration of RNA degradation // *Pharmacol. Ther.*–1998.–**78**, N 2.–P. 55–113.
2. Adah S. A., Bayly S. F., Cramer H., Silverman R. H., Torrence P. F. Chemistry and biochemistry of 2',5'-oligoadenylate-based antisense strategy // *Curr. Med. Chem.*–2001.–**8**, N 10.–P. 1189–1212.
3. Malmgaard L. Induction and regulation of IFNs during viral infections // *J. Interferon Cytokine Res.*–2004.–**24**, N 8.–P. 439–454.
4. Liang S. L., Quirk D., Zhou A. RNase L: its biological roles and regulation // *IUBMB Life.*–2006.–**58**, N 9.–P. 508–514.
5. Castelli J., Wood K. A., Youle R. J. The 2-5A system in viral infection and apoptosis // *Biomed. Pharmacother.*–1998.–**52**, N 9.–P. 386–390.
6. Lesiak K., Torrence P. F. Efficient functionalization of 2',5'-oligoadenylates with sulfur // *Bioconjugate Chem.*–1997.–**8**, N 2.–P. 199–203.
7. Ueno Y., Ishihara S., Ito Y., Kitade Y. Synthesis of 2',5'-oligoadenylate analogs containing an adenine acyclonucleoside and their ability to activate human RNase L // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*–2004.–**14**, N 17.–P. 4431–4434.
8. Pat. EP156870. Novel 2',5'-oligoadenylic acids analogues / M. Kozumi, K. Morita // *Publ.* 2005.
9. Ueno Y., Kato Y., Okatani S., Ishida N., Nakanishi M., Kitade Y. Synthesis of antisense oligonucleotides carrying modified 2-5A molecules at their 5'-termini and their properties // *Bioconjugate Chem.*–2003.–**14**, N 3.–P. 690–696.
10. Sawai H., Hirano A., Mori H., Shinozuka K., Dong B., Silverman R. H. Synthesis, characterization, and biological properties of 8-azido- and 8-amino-substituted 2',5'-oligoadenylates // *J. Med. Chem.*–2003.–**46**, N 23.–P. 4926–4932.
11. Kalinichenko E. N., Podkopaeva T. L., Budko E. V., Seela F., Dong B., Silverman R., Vepsäläinen J., Torrence P. F., Mikhailopolu I. A. 3-Deazaadenosine analogues of p5'A2'-

- p5'A2'p5'A: synthesis, stereochemistry, and the roles of adenine ring nitrogen-3 in the interaction with RNase L // *Bioorg. Med. Chem.*—2004.—**12**, N 13.—P. 3637–3647.
12. *Pat. USA 5571799.* (2'-5')Oligoadenylate analogues useful as inhibitors of host-vs.-graft response / Z. Tkachuk, E. Kvasyuk, G. Matsuka, I. Mikhailopulo // *Publ.* 1996.
 13. Сидорук Л. Л., Дубей І. Я., Бобык В. И., Козлов А. В., Федоркова О. М., Ковеня Т. В., Рябенко Д. В., Сергиенко О. В., Трунина И. В., Погребной П. В., Мацука Г. Х. Терапевтические эффекты действия различных доз 2'-5'-олигоаденилата при экспериментальном миоцин-индуцированном повреждении миокарда // *Доп. НАН України.*—2001.—№ 9.—С. 161–165.
 14. Ткачук З. Ю., Дубей І. Я., Яковенко Т. Г., Семерникова Л. І., Шановал С. О., Артеменко В. С., Дубей Л. В. Синтез 2'-5'-олигоаденилатів та їхній вплив на проліферацію і міграцію стовбурових клітин кісткового мозку мишей *in vitro* та *in vivo* // *Біополімери і клітина.*—2007.—**23**, № 1.—С. 14–20.
 15. Ткачук З. Ю., Ткачук В. В., Ткачук Л. В., Семерникова Л. І., Мацука Г. Х. Вплив 2'-5' олігоаденилатів та їх аналогів на рівень циклічних нуклеотидів в системах *in vivo* та *in vitro* // *Біополімери і клітина.*—2001.—**17**, № 5.—С. 411–416.
 16. Mueller W. E. G., Weiler B. E., Charubala R., Pfeleiderer W., Leserman L., Sobol R. W., Suhadolnik R. J., Schroeder H. C. Cordycepin analogues of 2',5'-oligoadenylate inhibit Human Immunodeficiency Virus infection via inhibition of reverse transcriptase // *Biochemistry.*—1991.—**30**, N 8.—P. 2027–2033.
 17. *Pat. USA 5550111.* Dual action 2',5'-oligoadenylate antiviral derivatives and uses thereof / R. J. Suhadolnik, W. Pfeleiderer // *Publ.* 1996.
 18. Black P. L., Henderson E. E., Pfeleiderer W., Charubala R., Suhadolnik R. J. 2',5'-Oligoadenylate trimer core and the cordycepin analog augment the tumoricidal activity of human natural killer cells // *J. Immunol.*—1984.—**133**, N 5.—P. 2773–2777.
 19. Hubbell H. R., Pequignot E. C., Willis D. H., Lee C., Suhadolnik R. J. Differential antiproliferative actions of 2',5' oligo A trimer core and its cordycepin analogue on human tumor cells // *Int. J. Cancer.*—1985.—**36**, N 3.—P. 389–394.
 20. Савелова В. А., Белоусова И. А., Литвиненко Л. М., Яковец А. А. Сопоставление нуклеофильной реакционной способности 4-N,N-диметиламинопиридина и его N-окиси // *Докл. АН СССР.*—1984.—**274**, № 6.—С. 1393–1398.
 21. Efimov V. A., Chakhmakhcheva O. G., Ovchinnikov Yu. A. Improved rapid phosphotriester synthesis of oligodeoxyribonucleotides using oxygen-nucleophilic catalysts // *Nucl. Acids Res.*—1985.—**13**, N 10.—P. 3651–3666.
 22. Efimov V. A., Buryakova A. A., Dubey I. Y., Polushin N. N., Chakhmakhcheva O. G., Ovchinnikov Yu. A. Application of new catalytic phosphate protecting groups for the highly efficient phosphotriester oligonucleotide synthesis // *Nucl. Acids Res.*—1986.—**14**, N 16.—P. 6525–6540.
 23. Efimov V. A., Buryakova A. A., Dubey I. Y., Polushin N. N., Chakhmakhcheva O. G., Ovchinnikov Yu. A. Phosphotriester synthesis of oligonucleotides with the use of N- and O-nucleophilic intramolecular catalysis // *Nucleosides and Nucleotides.*—1987.—**6**, N 1–2.—P. 279–282.
 24. Ochiai E. Recent Japanese work on the chemistry of pyridine N-oxide and related compounds // *J. Org. Chem.*—1953.—**18**, N 5.—P. 534–551.
 25. Katritzky A. R. The preparation of some substituted pyridine 1-oxides // *J. Chem. Soc.*—1956.—**7**.—P. 2404–2408.
 26. Kvasyuk E. I., Kulak T. I., Khripach N. B., Mikhailopulo I. A., Uhlmann E., Charubala R., Pfeleiderer W. Nucleotides XXIV. Preparative synthesis of trimeric (2'-5')oligoadenylic acid // *Synthesis.*—1987.—N 6.—P. 535–541.
 27. А. с. СССР 1541214. Способ получения 5'-О-монометокситригитил-N6,3'-О-добензоиладенозина / Т. Л. Подкопаева, Е. Н. Калиниченко, И. А. Михайлопуло // *Б. и.*—1990.—№ 5.—С. 121.
 28. *Oligonucleotide synthesis: a practical approach* / Ed. M. J. Gait.—Oxford: IRL press, 1984.—218 p.
 29. Robins M. J., Fouron Y., Mengel R. Nucleic acid related compounds. 11. Adenosine 2',3'-ribo-epoxide. Synthesis, intramolecular degradation and transformation into 3'-substituted xylofuranosyl nucleosides and lyxo-epoxide // *J. Org. Chem.*—1974.—**39**, N 11.—P. 1564–1570.
 30. Reese C. B., Zard L. Some observations relating to the oximate ion promoted unblocking of oligonucleotide aryl esters // *Nucl. Acids Res.*—1981.—**9**, N 18.—P. 4611–4626.
 31. Efimov V. A., Reverdatto S. V., Chakhmakhcheva O. G. New effective method for the synthesis of oligonucleotides via phosphotriester intermediates // *Nucl. Acids Res.*—1982.—**10**, N 21.—P. 6675–6694.

УДК 577.113.6

Надійшла до редакції 19.04.07