

Синтез и свойства модифицированных по углеводофосфатному остову аналогов олигонуклеотидов и миметиков нуклеиновых кислот

Т.В.Абрамова, В.Н.Сильников

Учреждение Российской академии наук

Институт химической биологии и фундаментальной медицины Сибирского отделения РАН
630090, Новосибирск, просп. Акад. Лаврентьева, 8, факс (383)363–5182

Рассмотрены достижения в области синтеза аналогов олиго(дезоксир)ибонуклеотидов и миметиков нуклеиновых кислот за последние 10 лет. Основное внимание уделено новым методам получения производных с измененным рибозофосфатным остовом (фосфоротиоатных, боранофосфатных, нуклеозидфосфонатных) и не содержащих фосфатной группировки. Среди миметиков нуклеиновых кислот рассмотрены конформационно-ограниченные модифицированные пептидо-нуклеиновые кислоты, в том числе несущие отрицательный или положительный заряд, и морфолиновые олигомеры. Проведено сравнение достоинств и недостатков основных типов аналогов с точки зрения сложности их синтеза и возможностей дальнейшего применения в качестве антисмысловых агентов или реагентов для гибридизационного анализа.

Библиография — 282 ссылки.

Оглавление

I. Введение	452
II. Аналоги олигонуклеотидов с модифицированными связями (линкером) между нуклеозидами	454
III. Аналоги олигонуклеотидов с модифицированным углеводным фрагментом	459
IV. Миметики нуклеиновых кислоты	463
V. Заключение	471

I. Введение

Успехи молекулярной биологии в конце XX в. привели к широкому использованию дезоксирибо- и рибоолигонуклеотидов и их производных как эффективных инструментов исследования. В медицинской практике применение олигонуклеотидов в настоящее время в значительной степени ограничивается целями диагностики, однако не прекращаются попытки создания лекарственных препаратов, направленных на коррекцию экспрессии определенных генов. Прогресс, достигнутый в этом направлении в 80-е гг. XX в.,

со всей очевидностью поставил перед химиками-синтетиками две задачи. Первая заключалась в разработке высокоэффективных препаративных методов синтеза олигонуклеотидов, которые позволяют получать их в количествах, достаточных для практического применения. Вторая задача — поиск синтетических аналогов, которые были бы лишены основных недостатков, присущих природным нуклеиновым кислотам (НК), — плохого проникновения через клеточные мембраны и быстрой ферментативной деградации *in vivo*.^{1,2}

Наряду с разработкой методов синтеза природных дезоксирибо- и рибоолигонуклеотидов³ химиками были предприняты усилия по получению модифицированных олигомеров, которые, с одной стороны, сохраняли бы способность к комплементарному взаимодействию гетероциклических оснований, а с другой — приобрели новые свойства, например электронейтральность (для проникновения через липидные мембраны) или устойчивость к действию нуклеаз. Были получены и исследованы поливиниловые,⁴ полиакрилатные,⁵ полиакриламидные⁶ сополимеры урацила, аденина, цитозина и гипоксантина. Позднее были синтезированы и изучены также короткие аналоги олигодезоксинуклеотидов, содержащие вместо фосфатной группировки карбонатные, карбаматные, оксиацетэфирные и оксиацетамидные связи между нуклеозидами.⁷

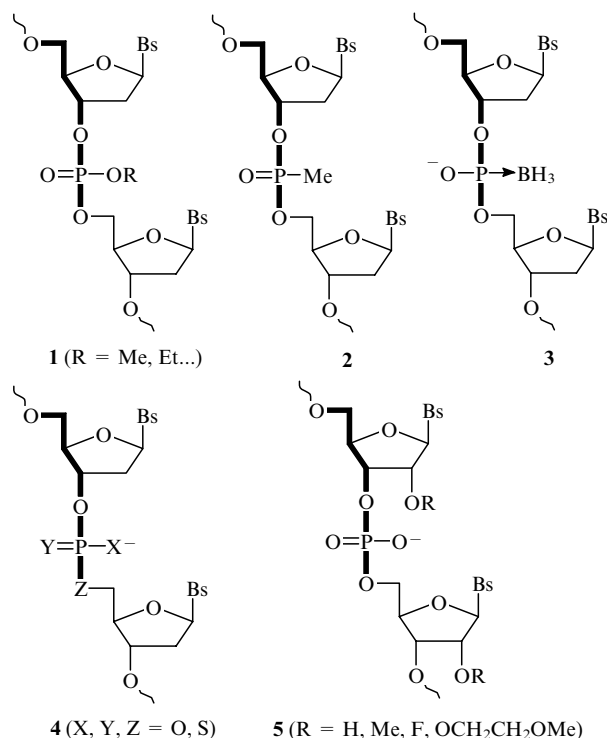
Т.В.Абрамова. Кандидат химических наук, старший научный сотрудник лаборатории органического синтеза ИХБФМ СО РАН. Телефон: (383)363–5183, e-mail: abramova@niboch.nsc.ru
Область научных интересов: химия нуклеозидов, олигонуклеотидов и их аналогов; синтез конъюгатов олигонуклеотидов, синтез трифосфатов олигонуклеотидов.

В.Н.Сильников. Доктор химических наук, заведующий той же лабораторией. Телефон: (383)363–5182, e-mail: silnik@niboch.nsc.ru
Область научных интересов: химия пептидов, синтез пептидо-миметиков и искусственных РНКаз, химия нуклеозидов.

Дата поступления 10 октября 2010 г.

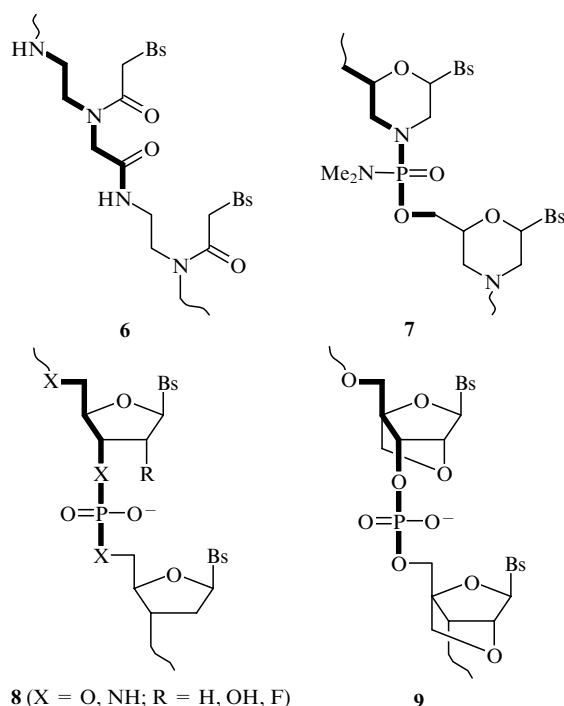
К началу 90-х гг. XX в. был определен ряд наиболее вероятных путей терапевтического воздействия олигонуклеотидов: расщепление комплементарных матричных РНК с помощью РНКазы Н, блокирование процессинга, обратной транскрипции или трансляции РНК путем образования стабильных гетеродуплексов, воздействие на транскрипцию ДНК с помощью триплексов или внедрения в комплементарные ДНК-дуплексы. Продолжался активный поиск других практических приложений для олигонуклеотидов и их синтетических аналогов в молекулярно-биологических исследованиях.⁸ Были сформулированы основные требования к физико-химическим свойствам таких соединений: стабильность в биологических средах и внутри клетки, способность проникать сквозь клеточные мембраны и образовывать стабильные комплементарные комплексы с нуклеиновыми кислотами.^{9, 10}

Необходимых физико-химических свойств аналогов олигонуклеотидов (АО) можно достичь прежде всего путем модифицирования сахарофосфатного остова олигомеров. Были получены фосфотриэфирные[†] (1),¹¹ метилфосфонатные (2),¹² боранофосфонатные (3),¹³ фосфоромоно(ди)тиоатные (4)¹⁴ и 2'-О-замещенные (5)¹⁵ олигонуклеотиды, а также другие подобные соединения, которые в настоящее время относят к АО первого и второго поколений.¹⁶



Достижения при применении АО первого и второго поколений в антисмысловом подходе к регуляции экспрессии генов обобщены в монографии¹⁷.

Позднее были синтезированы аналоги третьего поколения — пептидо-нуклеиновые кислоты (ПНК, 6), а также их морфолиновые (7), 3'(5')-N-амидофосфонатные (8) и конформационно-ограниченные (9) производные.



Некоторые из полученных олигомеров (например, макромолекулы 6, 7) не содержат сахарофосфатного остова как такового, сохраняя лишь последовательность гетероциклических оснований, способных к комплементарному взаимодействию и соединенных определенным (регулярным) числом ковалентных связей. Такие олигомеры правильнее называть миметиками нуклеиновых кислот. Данные по синтезу и свойствам АО третьего поколения и миметиков НК, известных к началу XXI в., представлены в обзорах^{18–23}.

Несмотря на большое число уже синтезированных разнообразных производных, в которых модифицирован сахарофосфатный остов природных олиго(дезоксир)ибонуклеотидов, количество работ в данном направлении не уменьшается. Во многом это обусловлено высоким уровнем развития молекулярной биологии и, как следствие, расширением круга задач, для решения которых могут быть полезны АО.^{24–28} В недавно вышедшей монографии²⁹ обобщены примеры использования таких соединений в молекулярной биологии и медицине.

В настоящем обзоре рассмотрены данные, полученные в основном за последние десять лет и касающиеся дизайна, синтеза и свойств олигонуклеотидных аналогов с модифицированным рибозофосфатным остовом и миметиков НК. Основное внимание уделено новым методам их синтеза (в том числе препаративным), а также физико-химическим и биологическим свойствам. Эти свойства в ряде случаев являются уникальными, например сочетание превосходных гибридизационных и дискриминирующих характеристик при комплексообразовании с НК с хорошей растворимостью в воде и биологической стабильностью, а также со способностью проникать через клеточные мембраны. Следует отметить, что пути решения проблем применения природных и модифицированных олигонуклеотидов в медицинских целях, особенно вопросы доставки терапевтических олигонуклеотидных препаратов к месту действия внутри клетки, интенсивно изучаются. Один из подходов включает создание конъюгатов олиго(дезоксир)ибонуклеотидов с различными носителями — специальными пептидами, липидами или

[†] Здесь и далее последовательность связей в модифицируемом фрагменте выделена полужирной линией, Bs обозначает пуриновое или пиримидиновое основание.

наночастицами,^{30–33} однако рассмотрение модифицированных подобным образом олиго(дезоксир)ибонуклеотидов остается за рамками данного обзора.

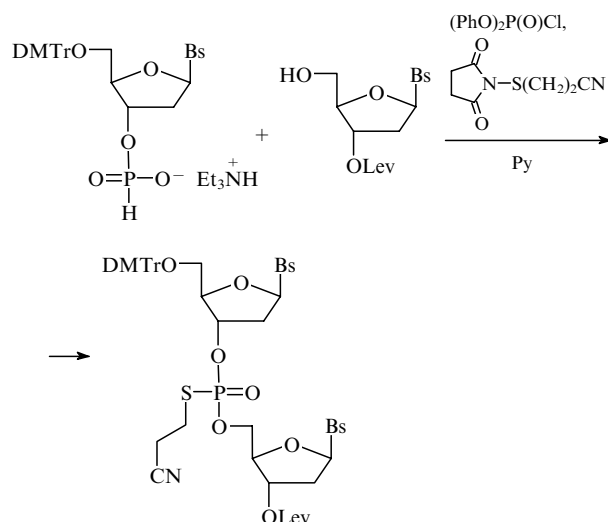
II. Аналоги олигонуклеотидов с модифицированными связями (линкером) между нуклеозидами

1. Отрицательно заряженные аналоги

К настоящему времени более 40 антисмысловых олигонуклеотидов и их аналогов находятся на различных стадиях доклинических и клинических испытаний, причем более половины из них представляют собой фосфоротиоаты **4** ($Y = S$; $X = Z = O$).²⁷ В связи с потребностью в больших количествах (возможно, до сотен килограммов³⁴) фосфоротиоатных АО продолжаются работы по оптимизации методов их получения. В обзоре³ отмечается, что, несмотря на успехи твердофазного синтеза фосфоротиоатных АО,³⁵ оптимальным для получения таких производных в препаративных количествах, по-видимому, будет все-таки сочетание методов синтеза в растворе и на твердом носителе.

Единственный допущенный на фармацевтический рынок США олигодезоксинуклеотид — препарат VitraveneTM — представляет собой 21-звенный фосфоротиоат. В работе³⁴ проведен синтез этого соединения в растворе с помощью модифицированного Н-фосфонатного метода. На первом этапе синтезировали 4 различных защищенных тринуклеотидных блока. Для повышения устойчивости межнуклеозидной Н-фосфонатдиэфирной группы и повышения выхода промежуточных ди- и тримеров была предложена процедура четырехкомпонентной конденсации (схема 1).

Схема 1



DMTr — 4,4'-диметилтритил; Lev = $C(O)(CH_2)_2Ac$; Py — пиридин.

Окисление связей $P-H$ в процессе конденсации с одновременной защитой образующейся фосфоротиоидиэфирной группы позволило значительно упростить получение димеров и тримеров с высокими выходами, характерными для синтеза олиго(дезоксир)ибонуклеотидов на твердом носителе, без использования больших избытков нуклеотидного компонента. При дальнейшем увеличении цепи олигомера с помощью тринуклеотидных блоков выходы продукта составляли 92–94% на одну стадию до пентадекамера и 88–89% при получении 18- и 21-звенных аналогов. Авторы

отмечают, что предложенная ими методика (протокол), включающая конденсацию, деблокирование и очистку фосфоротиоатных олигодезоксирибонуклеотидов, может быть легко масштабирована и оптимизирована, что имеет большое практическое значение.

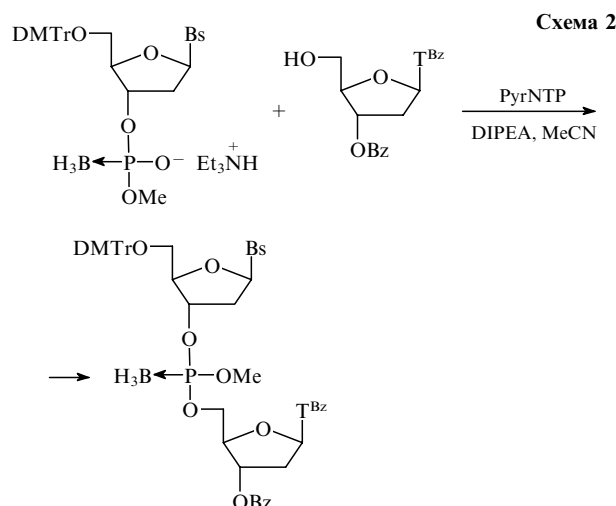
С целью повышения выхода и чистоты конечного продукта для автоматического твердофазного синтеза фосфоротиоатов амидофосфитным методом были предложены новые реагенты для окисления — фенилацетилдисульфид,³⁵ 3-амино-1,2,4-дитиазол-5-тион³⁶ и N,N -диметилтиурамдисульфид.³⁷ Кроме того, был разработан новый способ присоединения пуринового нуклеозида к носителю³⁸ и описан новый универсальный линкер для твердофазного синтеза.³⁹

Атом фосфора в фосфоротиоатных АО является хиральным, и свойства индивидуальных диастереомеров этих соединений существенно различаются.⁴⁰ С целью исключения стадии разделения диастереомеров фосфоротиоатов недавно был предложен новый метод стереоспецифичного образования фосфоротиоатной межнуклеозидной связи для олигодезоксирибонуклеотидов.⁴¹ Он заключается в применении внутримолекулярного катализа 4-метокси-1-оксидо-2-пикольной группой, защищающей фосфатный фрагмент; ранее такой прием успешно использовался в фосфотриэфирном методе получения природных олигодезоксирибонуклеотидов.⁴² В работе⁴³ подобный подход применен для твердофазного синтеза природных и модифицированных по положению 2' олигорибонуклеотидов, в том числе для стереоспецифичного синтеза их фосфоротиоатных аналогов. Последние достижения по стереоспецифичному синтезу фосфоротиоатных АО обобщены в обзоре⁴⁴.

В то время как фосфородитиоатные АО **4** ($X = Y = S$, $Z = O$), содержащие незтерифицированные атомы серы, получены довольно давно и их свойства хорошо изучены,⁴⁵ 5'-S-фосфородитиоаты **4** ($Z = S$), содержащие один из атомов серы в качестве мостиковой группы, описаны совсем недавно.⁴⁶ Польские ученые синтезировали дитимидиновый и цитидинимидиновый динуклеотиды **4** ($X = Z = S$, $Y = O$; принятое обозначение $d(Np(s)sT)$) и разделили их диастереомеры. На основе эмпирических правил⁴⁷ отнесения абсолютной конфигурации при атоме фосфора в фосфоротиоатных производных авторами работы⁴⁶ была предложена стереохимия индивидуальных диастереомеров. Были получены также тетра- и декатимидилаты, содержащие модифицированную связь в середине цепи.

Среди АО первого и второго поколения в последнее время большой интерес вызывают боранофосфатные АО **3** в связи с возможностью применения этих соединений в противоопухолевой терапии методом захвата нейтронов.^{48,49} Ранее их получали амидофосфитным и Н-фосфонатным методами, однако окисление промежуточного фосфита в присутствии борана приводило к большому числу побочных продуктов.⁵⁰ Авторы работы⁵¹ предложили синтезировать боранофосфатные АО с помощью фосфотриэфирного подхода (схема 2), в этом случае борановая группировка входит в состав фосфорилирующего реагента.

Японские исследователи рекомендовали также дополнительные защитные группы для тимидина и дезоксигуанозина и оптимизировали процедуру деблокирования защищенных производных. В ходе дальнейшего совершенствования своей методики они успешно осуществили твердофазный синтез боранофосфатных дезоксиолигомеров фосфотриэфирным методом. Отработанные методики впоследствии были использованы в синтезе олигорибонуклеотидов.^{52,53} Следует отметить, что боранофосфатные АО могут служить пред-



Tbz — 3-бензоилтимидин; PyrNTP — гексафторофосфат 3-нитро-1,2,4-триазол-1-илтрис(пирролидин-1-ил)фосфония; DIPEA — диизопропилэтиламин.

шественниками Н-фосфонатов, так как борановая группировка легко отщепляется в присутствии кислот Льюиса. При дальнейшем окислении таких Н-фосфонатов получают другие производные олигонуклеотидов по атому фосфора — фосфотриэфиры, фосфоротиоаты и амидофосфаты.⁵⁴

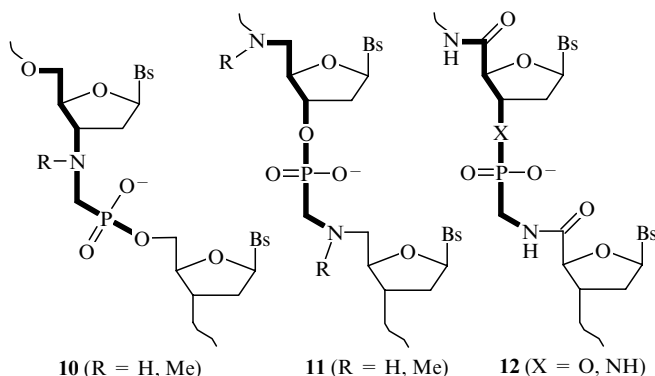
Боранофосфатные АО 3 также содержат хиральный атом фосфора, поэтому актуальными являются разработка стереоспецифичных методов синтеза и изучение свойств индивидуальных диастереомеров. Недавно были предложены два метода стереоконтролируемого образования боранофосфатной связи посредством стереоспецифичной реакции оптически чистого 3'-оксазафосфолидинового производного нуклеозида с компонентом, содержащим гидроксильную группу, в присутствии слабонуклеофильного кислотного катализатора. Первый метод включал в себя поэтапное введение борана (амидофосфитный метод синтеза),⁵⁵ во втором методе введение борана проводили на последней стадии с помощью боранирования оптически чистых промежуточных соединений с Н-фосфонатными межнуклеотидными связями.⁵⁶

Синтез амидофосфатных АО 8 дезоксирибо- и рибозидов разработан в 90-х годах прошлого века на основе соответствующих амидофосфитных производных нуклеозидов и осуществляется в направлении 5' → 3'.²¹ Оказалось, что введение 3'-N—P—5'-O-связей в олиго(дезокс)рибонуклеотиды приводит к существенной стабилизации соответствующих комплементарных комплексов, особенно в случае олигорибозидных производных (R = OH).⁵⁷ В настоящее время амидофосфатные АО⁵⁸ и их тиоаналоги⁵⁹ широко изучаются как специфичные ингибиторы теломеразы с целью возможного подавления роста опухолей. В обзоре⁶⁰ обобщены данные по применению амидофосфатных АО 8 в качестве противоопухолевых средств широкого спектра действия.

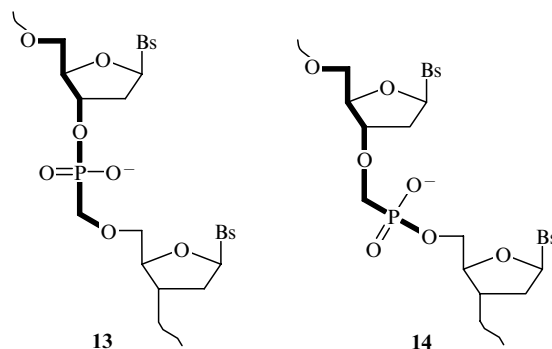
Кроме хорошо изученных АО первого и второго поколений синтезировано также множество соединений, в которых вместо остатка фосфорной кислоты, соединяющей (дезокс)рибонуклеозиды в природных НК, выступают остатки фосфоновых кислот. В отличие от метилфосфонатных аналогов 2 первого поколения эти соединения сохраняют отрицательно заряженный рибозофосфатный остов олигомеров, что повышает их растворимость в воде, при этом они устойчивы к действию нуклеаз и обычно не содержат дополнительных диастереомерных центров. Синтез таких олиго-

меров из мономеров проводят с помощью хорошо известных методов конденсации природных нуклеотидов.

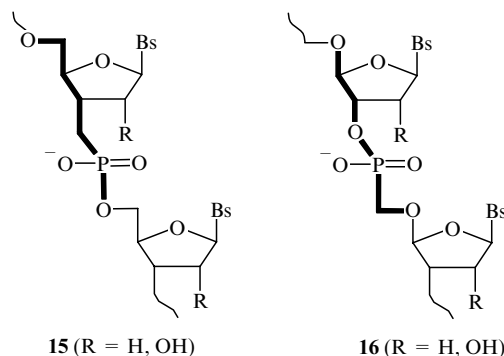
Например, авторы работы⁶¹ синтезировали новые 3'- и 5'-аминометилфосфоновые олигомеры 10, 11 и 5'-карбоксамидометилфосфоновые тимидиновые олигомеры 12, используя метод триэфирной конденсации с внутримолекулярным нуклеофильным катализом.⁴²



Была предложена универсальная схема синтеза 5'-О- и 3'-О-фосфометиленовых производных 13, 14 всех четырех дезоксирибонуклеотидов.⁶² Для получения олигомеров предлагали использовать метод триэфирной конденсации, для осуществления которого в остаток фосфоновой кислоты была введена 4-метокси-1-оксидо-2-пиколильная защитная группа.



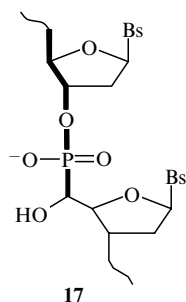
Кроме нуклеозидфосфонатных аналогов с повторяющимся мотивом сахарофосфатного остова длиной в семь ковалентных связей (соединения 10–14) описаны олигомеры 15, 16 с последовательностью из шести ковалентных связей.⁶³



Для синтеза АО 15 авторы работы⁶³ использовали 3'-С-метилден-Н-фосфонатные мономеры с заместителями в положении 2'. Возможно, что введение метиленовой группы в олигомеры 5 улучшит ферментативную стабильность и био-

доступность 2'-замещенных аналогов. Ключевой стадией синтеза являлось сочетание 3'-иодметилпроизводных с солью фосфиновой кислоты по реакции Арбузова. Затем 3'-метилден-Н-фосфонаты нуклеозидов в четыре стадии были превращены в соответствующие фосфоамидиты. Олигомеры **15**, синтезированные с использованием 3'-С-метилден-Н-фосфонатов и содержащие несколько модифицированных звеньев, обладали высоким сродством к комплементарной РНК и устойчивостью к воздействию нуклеаз. Предполагают,⁶³ что использование фосфоамидитов в твердофазном методе может повысить эффективность синтеза модифицированных олигонуклеотидов.

Чешскими учеными^{64,65} были получены мономеры и соответствующие олигомеры **17**, содержащие 5'- α -(ОН)С-метиленовый фрагмент с длиной повторяющегося мотива в пять ковалентных связей.



Однако в общем случае укорочение мотива до пяти связей приводило к дестабилизации комплементарных комплексов.

В дальнейшем данная группа авторов сосредоточила свои усилия на разработке метода получения мономеров и олигомеров нуклеозидфосфоновых кислот **16**. При этом межнуклеозидную линкерную группу присоединяли к атому углерода в положении 4' дезоксирибозы в двух возможных эпимерных конфигурациях. Были получены L-трео- и D-эритро-2',5'-дидезокси-4'-фосфонометокситимидины⁶⁶ и олигомеры **16** на их основе. Однако гибридизационные свойства новых олиготимидилатов оказались хуже, чем у природных соединений.⁶⁷ С использованием данного подхода продолжают работы по конструированию новых перспективных нуклеозидфосфоновых олигомеров, в том числе рибо-, ксило- и арабинориядов.^{68–71}

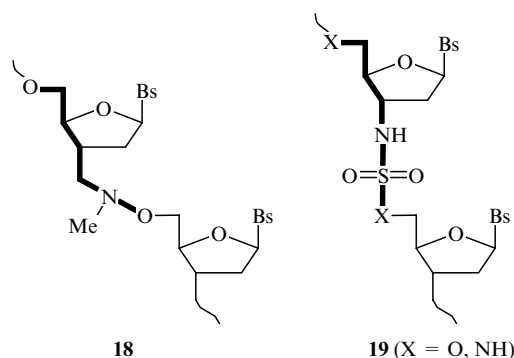
В целом следует отметить, что синтез мономеров для нуклеозидфосфонатных АО — многостадийный процесс, который требует значительных усилий. Наиболее перспективными нуклеозидфосфонатными АО представляются изо-стерические природным НК олигомеры **15**, хотя ключевые соединения для синтеза мономеров в этом случае — 3'-иодметилнуклеозиды — относительно труднодоступны.

2. Неионные аналоги олигонуклеотидов

Как было замечено уже на первых этапах работы с НК и их аналогами, полианионная природа НК препятствует свободному проникновению через клеточные мембраны без участия специальных белков-рецепторов, в то же время незаряженные аналоги легко проникают в клетку, например посредством диффузии.⁷² Вследствие этого незаряженные АО, такие как метилфосфонаты **2** или фосфотриэфиры **1**, давно привлекали внимание химиков. Однако невысокая стабильность комплементарных комплексов таких соединений и наличие дополнительного диастереомерного центра препятствовали их широкому применению в биологических исследованиях.

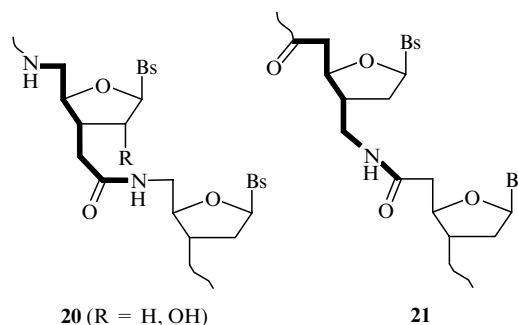
В последнее время получены новые типы незаряженных АО, не содержащих дополнительного хирального атома, с различными группами в качестве линкера между нуклеозидами.

Авторами работ^{73,74} синтезированы димеры с метилден-*N*-метилиминной межнуклеозидной связью, которые были использованы для получения олигомеров **18** дезоксирибо- и риборядов. Изучена термостабильность комплементарных дуплексов, содержащих несколько модифицированных связей в одной из цепей, и подробно исследованы методом ЯМР структуры комплементарного дуплекса додекамеров ДНК/РНК с одной модифицированной связью. На основании этих работ сделан вывод о предпочтительности образования дуплексов ДНК/РНК с участием модифицированных таким образом олигомеров.



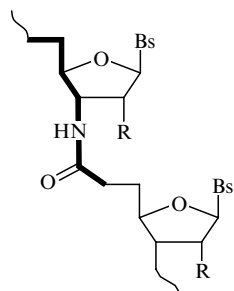
В работах^{75–77} описаны сульфамидные и сульфаматные производные димеров TsT и 2'-F-U_sT, а также дезокси-олигомеры **19** с модифицированными межнуклеозидными связями (до пяти модифицированных звеньев). Комплементарные комплексы, содержащие такие связи, оказались термостабильными, что говорит о перспективности дальнейшего изучения сульфаматных производных.

В связи с открытием особой роли РНК-олигомеров в регуляции экспрессии генов⁷⁸ химики стали уделять значительное внимание синтезу модифицированных РНК-производных. Наряду с синтезированными ранее АО дезоксирида **20**, **21** (R = H), содержащими метилденкарбоксамидную группу вместо фосфодиэфирной связи,⁷⁹ получены димеры рибонуклеозидов аденозина и уридина **20** (R = OH).⁸⁰



3'-С-Метилденкарбоксилированные уридин и аденозин образуются в реакции 3'-кетопроизводных нуклеозидов с [(этоксикарбонил)метилден]трифенилфосфораном с последующим стереоселективным восстановлением двойной связи. 3'-С-Метилденкарбокс-5'-*N*-амидные димеры получены путем конденсации карбоксилированных мономеров с 5'-аминонуклеозидами в присутствии дициклогексилкарбодиимида (ДЦК) либо через образование активированных *l*-нитрофениловых эфиров.

В работе⁸¹ были усовершенствованы предложенные ранее⁸⁰ условия реакции кетопроизводных нуклеозидов с [(этоксикарбонил)метил]трифенилфосфораном и получены все четыре рибонуклеозида, модифицированных по положению 3'. Этой же группой авторов синтезирован модифицированный димер риботимидинтимидин, его амидофосфитное производное и ряд дезоксиолigonуклеотидов с одной модифицированной межнуклеотидной связью.⁸² Получены также мономеры для синтеза АО **22** с межнуклеотидной связью $C(3')-NH-C(O)-CH_2-C(5')$.⁸³

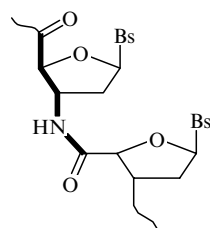


22 (R = H, OH)

Авторами работы⁸⁴ был разработан общий энантио-селективный метод синтеза защищенных 5'-азидо-3'-карбоксиметильных рибонуклеозидов для получения метиленкарбоксамидных аналогов РНК исходя из простых нехиральных молекул (не нуклеозидов).

Следует отметить, что создание АО с метиленкарбоксамидной межнуклеотидной связью, изостерических природным НК, в общем случае требует значительных синтетических усилий. Как правило, шесть ковалентных связей в повторяющемся мотиве (выделен на формулах полужирной линией) изостерических олигомеров **18–22** обеспечивают наилучшее моделирование параметров природного комплементарного комплекса и приводят к увеличению термостабильности комплементарных дуплексов.

Синтезированы также карбоксамидные олигомеры тимидина **23**, мономерным звеном которых выступает так называемая нуклеозид-β-аминокислота.⁸⁵

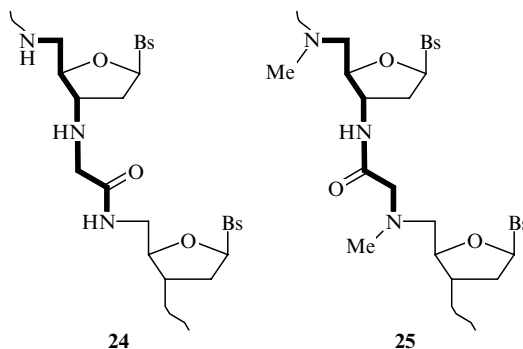


23

Нуклеозид-β-аминокислоты в составе углеводного компонента содержат карбоксильную и аминогруппы в β-положении по отношению друг к другу. Олигомеры на основе таких нуклеозидов имеют укороченный повторяющийся мотив в четыре ковалентных связи. Нуклеозид-β-аминокислоты легко получают при окислении защищенных 3'-аминонуклеозидов.⁸⁶ Авторы работы⁸⁵ обнаружили, что комплементарные комплексы олигомеров **23** обладают отличающимися от встречавшихся ранее параметрами спиральной конформации. Это обстоятельство может быть использовано для создания биополимеров с необычной макромолекулярной структурой.

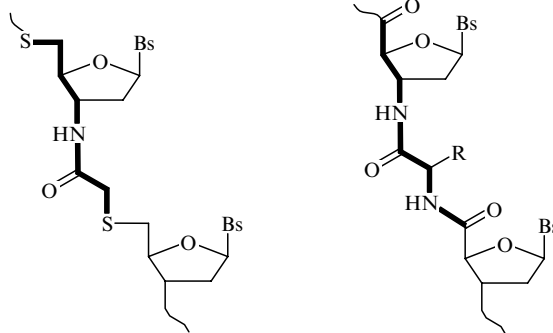
Как отмечено в работе⁸⁷, повторяющийся мотив из шести ковалентных связей в углеводофосфатном остове при-

родных НК иногда может быть удлинён на одну связь без потери специфичности комплементарного связывания и существенного снижения термостабильности комплексов. По этой причине наряду с карбоксамидными АО **20–22** были получены разнообразные карбоксамидные АО с семью ковалентными связями — глицинамидные (**24**), N-метилглицинамидные (**25**), тиацетамидные (**26**) и карбоксамидоглициновые (**27**, R = H) олигомеры.



24

25



26

27 (R = H, (CH₂)₄NH₂, (CH₂)₂SMe...)

Интерес к соединениям данного типа обусловлен тем, что для синтеза их мономеров обычно не требуется глубоких преобразований природных (дезоксирибонуклеозидов).

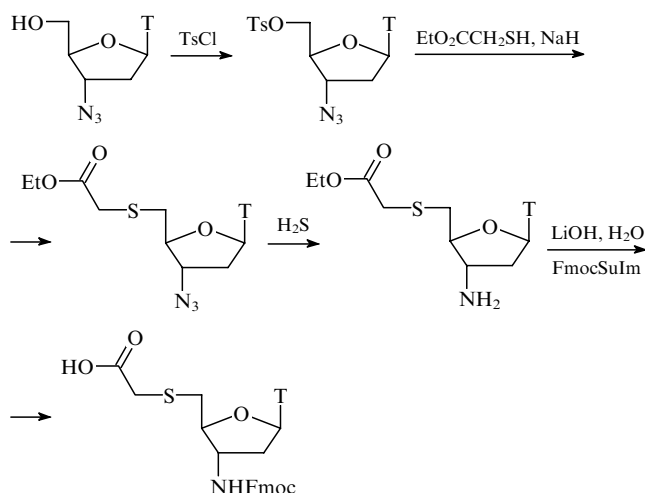
Олигомеры тимидина **24**, связанные глицинамидными связями, описаны в работе⁸⁸. Исходные мономеры получали алкилированием соответствующих защищенных 5',3'-дидезоксидиаминонуклеозидов бромуксусной кислотой. Отметим, что для получения нуклеозидфосфонатных и глицинамидных олигомеров авторы применили одинаковый протокол твердофазного синтеза с активацией остатков как фосфоновой, так и карбоновой кислот в присутствии триизопропилбензолсульфо(нитро)триазиолида и 1-метилимидазола. Было обнаружено, что комплементарные комплексы аналогов олиготимидилатов **24** с глицинамидными связями образуют более прочные комплексы с комплементарными олигоаденилатами, чем их аналоги **12** с фосфоновыми связями. Во всех случаях более стабильными были комплексы АО–РНК, а не АО–ДНК.

Позднее были синтезированы аналоги олигодезоксинуклеотидов **25**, содержащие изомерную межнуклеотидную глицинамидную связь.⁸⁹ При алкилировании 5'-N-метиламинозамещенного мономера этиловым эфиром бромуксусной кислоты получалось соединение с третичной аминогруппой, не требующей дальнейшей защиты в олигонуклеотидном синтезе.⁹⁰ Наличие модифицированных таким образом межнуклеотидных связей уменьшало термостабильность комплементарных комплексов с природными олигодезокси-

рибонуклеотидами, однако термостабильность комплексов с рибоолигонуклеотидами не исследовали.

Недавно группой индийских ученых описан новый тип АО — соединения **26**, содержащие тиацетамидную группировку между нуклеозидами.⁹¹ Тимидиновый мономер был получен с высоким выходом в несколько стадий исходя из 3'-азидотимидина (схема 3).

Схема 3



TsCl — *n*-толуолсульфонилхлорид; FmocSuIm — сукцинимидный эфир флуоренилкарбоната.

С помощью методов пептидной химии синтезированы октамеры, содержащие от одного до восьми модифицированных звеньев наряду с фрагментами пептидо-нуклеиновых кислот.⁹¹ Олигомеры **26**, содержащие тиацетамидные межукулидные связи, образуют стабильные комплементарные комплексы с РНК, при этом комплексы с ДНК не были зарегистрированы.

В работе⁹² описаны химерные октадекадезоксирibo-олигонуклеотиды, содержащие одну или две тиацетамидные межукулидные связи. Авторы указывают, что в этом случае наблюдается предпочтительное образование комплементарных комплексов ДНК–РНК по сравнению с комплексами ДНК–ДНК. По их мнению, использование изомерных тиацетамидных связей в тимидиновом мономере с *ликсо*-конфигурацией может дополнительно увеличить избирательность тиацетамидных АО по отношению к РНК.⁹³ Подробное изучение структуры и термодинамических параметров комплементарных тетрадекамерных ДНК–ДНК-дуплексов, содержащих до трех тиацетамидных межукулидных связей, позволило выяснить причины их пониженной термостабильности.⁹⁴ Использование тиацетамидных АО **26** как молекул, специфично узнающих РНК, представляется весьма перспективным, однако пока синтезированы только производные тимидина.

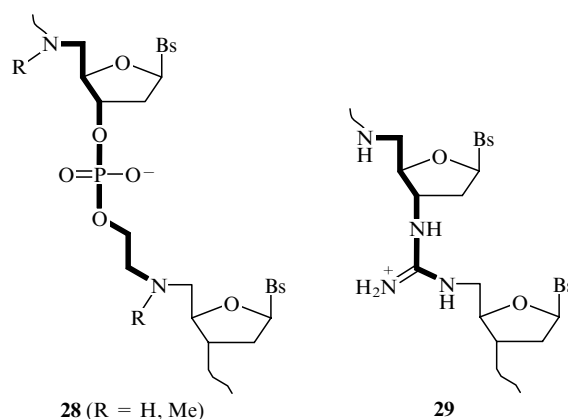
Как было отмечено выше, нуклеозид-β-аминокислоты легкодоступны и могут быть использованы для синтеза пептидоподобных олигомеров **23**.⁸⁵ Тем не менее для образования стабильных комплементарных комплексов с природными НК необходимо удлинить в таких олигомерах повторяющийся мотив из четырех ковалентных связей. Авторы работы⁹⁵ предложили ввести дополнительную линкерную группу, состоящую из природных α-аминокислот — пролина, саркозина, метионина, лизина (олигомеры **27**).

Были синтезированы тимидинсодержащие модифицированные октамеры. Все полученные АО образовывали более прочные комплементарные комплексы с РНК, чем с ДНК. При дальнейшем изучении влияния стереохимии α-аминокислот, использованных в качестве линкера между нуклеозид-β-аминокислотами, было найдено, что конфигурация линкера определяет степень стэкинг-взаимодействия гетероциклических оснований в АО **27**. Это, в свою очередь, влияет на стабильность их комплементарных комплексов и избирательность связывания с ДНК или РНК.⁹⁶ В работе⁹⁷ было также обнаружено, что избирательность связывания карбоксамидных АО с РНК зависит от стереохимии линкера между нуклеозидами в случае наличия в нем дополнительного хирального атома углерода.

В целом нужно отметить, что среди неионных аналогов олигонуклеотидов, рассмотренных в этом разделе, наиболее перспективными с точки зрения простоты синтеза и эффективности образования комплементарных комплексов представляются тиацетамидные АО **26**, хотя пока опубликованы данные только для синтеза тимидиновых олигомеров. Интересным фактом является также их исключительная избирательность связывания с РНК.⁹¹

3. Положительно заряженные аналоги олигонуклеотидов

По мере изучения взаимодействия природных и модифицированных олигонуклеотидов с клетками становится все больше данных в пользу того, что введение катионных групп в молекулу олигонуклеотидов не только стабилизирует образованные ими комплементарные комплексы, но и способствует проникновению АО внутрь клетки.⁹⁸ В связи с этим положительно заряженные при физиологических условиях АО рассматриваются как перспективные соединения для антисмысловой терапии. Источниками положительного заряда могут быть как протонируемые при физиологических значениях pH аминогруппы, например первичные или вторичные аминогруппы в линкере (олигомеры **28**),⁹⁹ так и катионные группы, например гуанидиниевые (олигомеры **29**).¹⁰⁰

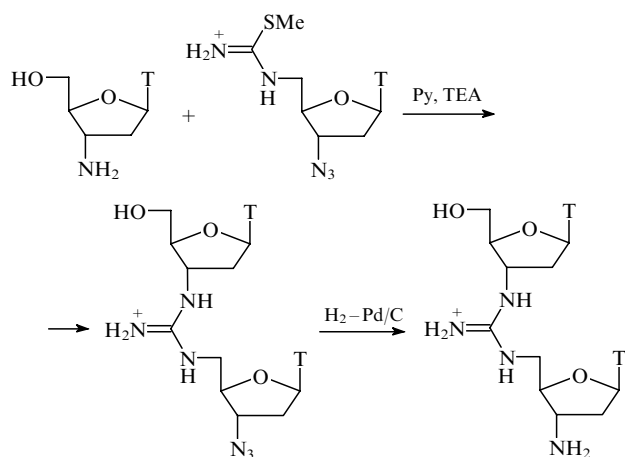


28 (R = H, Me)

29

В работе¹⁰⁰ описано получение тимидинового димера (схема 4), содержащего гуанидиниевую группу в качестве межукулидного линкера. Предложено также синтезировать подобные олигомеры с использованием двухступенчатого цикла наращивания цепи с восстановлением 3'-азидогруппы после каждой конденсации.

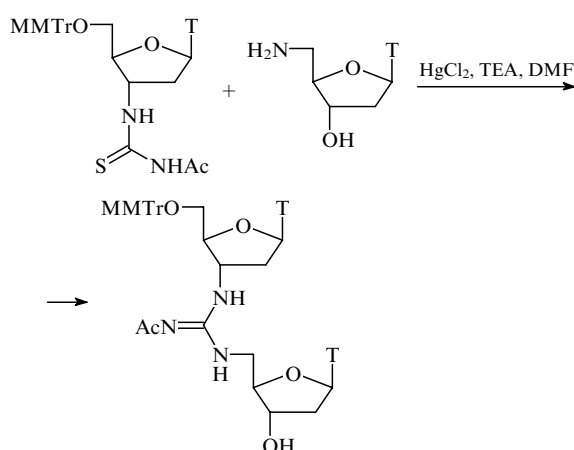
Схема 4



TEA — триэтиламин.

Для синтеза химерных олигодезоксирибонуклеотидов, содержащих до трех гуанидиниевых фрагментов, авторам работы¹⁰¹ пришлось изменить схему синтеза тимидинового димера (схема 5), так как при использовании стандартного протокола амидофосфитного синтеза олигонуклеотидов гуанидиниевую группу необходимо защищать.

Схема 5



MMTr — 4-монометокситригил.

Конденсация тимидинового производного ацетилтиомочевинны и аминного компонента в присутствии HgCl_2 протекала через промежуточное образование карбодиимида. В результате реакции получался ацилированный по гуанидиниевой группе димер, который после фосфитилирования можно было использовать в олигонуклеотидном синтезе. Нужно отметить, что в присутствии солей ртути конденсация проходила быстрее и при более мягких условиях, чем в их отсутствие (2 ч при комнатной температуре против 40 ч при 100°C). Подобная схема конденсации с активацией производного тиомочевинны хлоридом ртути(II) оказалась достаточно удобной и в твердофазном варианте синтеза модифицированных олигомеров в направлении $5' \rightarrow 3'$.

Авторами работы¹⁰² проведен синтез гуанидиниевых тимидиноктамеров. Включение в гуанидиниевые олигомеры **29** до четырех незаряженных межнуклеозидных звеньев из остатков мочевины позволяло осуществить «тонкую подстройку» эффективности и специфичности связывания поликатионных олигомеров **29** с комплементарной последо-

вательностью ДНК. В дальнейшем авторы синтезировали тимидиновые и дезоксиаденозиновые мономеры, содержащие $3'-(N\text{-ацил})$ тиомочевинную группировку. Кроме того, они адаптировали твердофазный вариант синтеза химерных олигомеров в направлении $3' \rightarrow 5'$ с использованием пористого стекла в качестве носителя и получили тимидин- и аденозинсодержащие гексамеры.¹⁰³

Из дезоксигуанозиновых¹⁰⁴ и дезоксицитидиновых мономеров¹⁰⁵ были синтезированы гуанидиниевые АО **29**, включающие все четыре гетероциклических основания. Позже эта же группа авторов подробно изучила структуры комплементарных комплексов химерных АО, содержащих гуанидиниевые вставки, различными физико-химическими методами.^{106–108} Показано, что такие АО образуют существенно более прочные комплементарные комплексы, чем природные олиго(дезоксирибонуклеотиды, без потери специфичности.¹⁰⁷

Необходимо отметить, что рассмотренные в разделе II типы АО с модифицированными отрицательно заряженными, нейонными и положительно заряженными связями между нуклеозидами не исчерпывают всего многообразия модификаций линкера между нуклеозидами. Можно отметить работы по синтезу нейонных АО с сульфидными, сульфоксидными и сульфоновыми,^{109,110} фосфоацетильными,¹¹¹ фосфоформильными,¹¹² формацетальными (см.^{113,114}) связями между нуклеозидами. Эти и некоторые другие АО рассмотрены в недавнем обзоре¹¹⁵. Как правило, получение не содержащих фосфатной группировки аналогов требует больших усилий как для синтеза мономеров, так и для дальнейшей сборки гомогенных или химерных олигомеров. Исследования по конструированию и синтезу разнообразных АО с модифицированными связями между нуклеозидами продолжаются и в настоящее время. Интенсивное изучение структуры комплементарных комплексов таких АО позволяет теоретически обосновать и, возможно, предсказать оптимальную структуру, необходимую для выполнения модифицированными олигомерами тех или иных функций.¹¹⁶

III. Аналоги олигонуклеотидов с модифицированным углеводным фрагментом

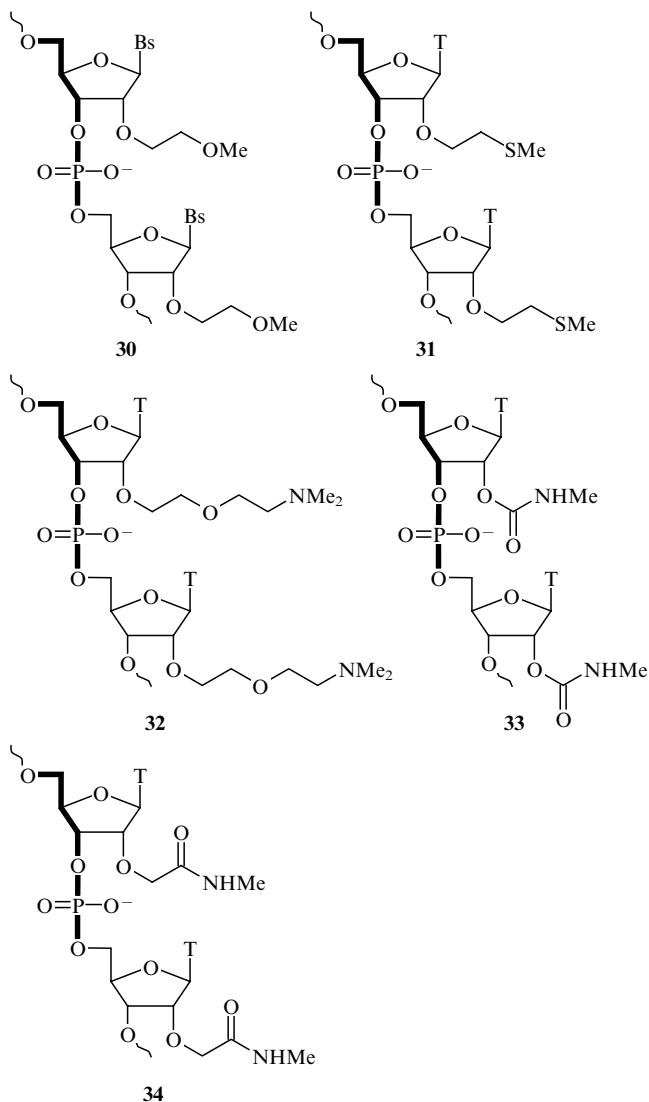
В предыдущем разделе мы рассматривали АО с видоизмененным линкером между практически неизменными нуклеозидами, входящими в состав природных НК. Поскольку наша классификация в некоторой степени условна (например, были представлены соединения, в которых модифицирован не только линкер, но и положение $2'$ рибозы⁵³), мы полагаем, что главным признаком, который определяет строение олигомеров и их комплементарных комплексов, является природа линкера, соединяющего мономеры. В настоящем разделе представлены АО, в которых модифицированные по углеводному фрагменту нуклеозиды соединены остатками фосфорной кислоты, как и в природных НК. Наиболее важными представителями таких аналогов являются $2'$ -О-модифицированные олигорибонуклеотиды **5** (см.^{117,118}) и конформационно-ограниченные АО **9** (см.¹¹⁹).

1. Модифицированные по положению $2'$ аналоги олигонуклеотидов

Соединения **5**, содержащие $2'$ -модифицированные (в основном $2'$ -О-алкилированные) нуклеозидные звенья, относят к так называемым антисмысловым аналогам олигонуклео-

тидов второго поколения. И соответствующие мономеры, и олигомеры можно относительно легко синтезировать. Кроме того, эти АО характеризуются повышенной устойчивостью к нуклеазам и сродством к комплементарным РНК. Они широко применяются в клинических испытаниях лекарственных средств, действующих по принципу антисмысловой терапии.^{27, 120}

В последнее время наряду с классическими 2'-*O*-метильными и 2'-*O*-(2-метокси)этильными производными **30** получены 2-метилтиоэтильные (**31**),¹²¹ протонируемые 2'-*O*-2-[(2-*N,N*-диметиламино)этокси]этильные (**32**),¹²² 2'-*O*-(*N*-метил)-карбаматные (**33**), 2'-*O*-[(2-(*N*-метиламино)-2-оксо]этильные (**34**)^{123, 124} аналоги и другие соединения.

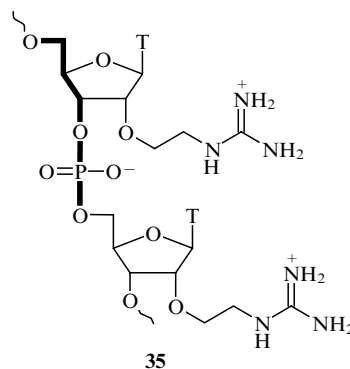


Известно, что природа и свойства заместителей (их гидрофобность, электроотрицательность, объем и др.) при атоме углерода в положении 2' рибозы сильно влияют на стабильность комплементарных комплексов модифицированных олигонуклеотидов. Авторы работы¹²⁵ обнаружили, что в то время как наличие 2'-*O*-карбаматных нуклеозидов в модифицированном олигонуклеотиде (олигомеры **33**) дестабилизирует комплементарный комплекс, введение одной дополнительной метиленовой группы в заместитель по положению 2' (олигомеры **34**) приводит к повышению температуры плавления дуплекса с РНК. Изучение строения

дуплексов самокомплементарных модифицированных декамеров с помощью рентгеноструктурного анализа выявило наличие конформационных ограничений в случае карбаматных производных.

В дальнейшем этой группой ученых было предпринято систематическое изучение влияния природы 2'-*O*-заместителя на структуру и стабильность комплементарных дуплексов. Исходя из риботимидина, были синтезированы десять новых модифицированных 2'-*O*-алкилированных нуклеозидов, содержащих¹²⁶ гидрофобные, гидрофильные или протонируемые при физиологических условиях остатки. Для получения более точных данных РСА были предложены синтетические протоколы введения атома селена в 2'-модифицированные нуклеозиды вместо атома кислорода гидроксильной группы.¹²⁷

Авторы работы¹²⁸ обнаружили, что наличие протонируемой аминогруппы повышает термостабильность комплементарных комплексов 2'-*O*-модифицированных олигонуклеотидов с ДНК и РНК. Позднее этими же авторами были получены 2'-*O*-модифицированные нуклеозиды, содержащие катионную гуанидиниевую группу, — соединения **35**.¹²⁹



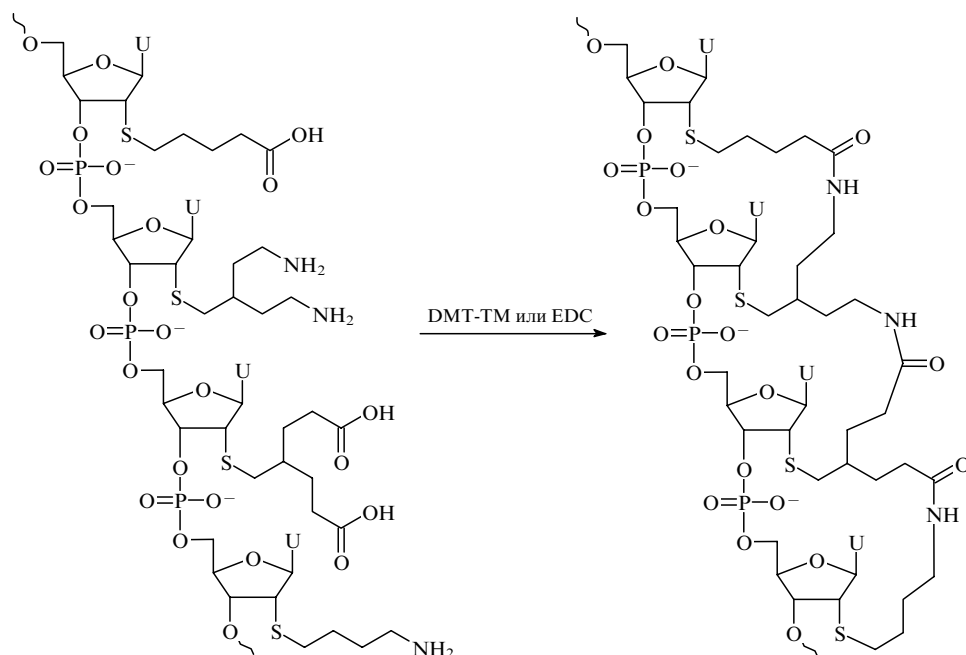
Для использования модифицированных мономеров в стандартном амидофосфитном протоколе твердофазного олигонуклеотидного синтеза была применена новая *N*-(2-цианоэтокси)карбонильная защитная группа гуанидиниевого остатка и оптимизированы условия деблокирования олигонуклеотидов.¹²⁹

Поскольку разнообразие 2'-*O*-модифицированных АО можно сравнительно легко синтезировать, интенсивно развиваются работы по изучению этих соединений не только как антисмысловых агентов,¹³⁰ но для применения в других областях — получения олигонуклеотид-пептидных конъюгатов,¹³¹ аптамеров,¹³² наноматериалов для построения молекулярных сетей и блоков для создания молекулярных машин.^{133, 134}

В работе¹³⁵ предложены так называемые нейлон-ДНК. Для образования регулярных амидных связей в олиготимидилат были введены 2'-*S*-замещенные уридиновые мономеры, содержащие линкеры с одной(двумя) амино- или одной(двумя) карбоксильными группами таким образом, чтобы при последующей внутримолекулярной конденсации в водном растворе образовалась требуемая структура (схема б).

В дальнейшем эти же авторы развили свой подход, осуществив сборку нейлон-ДНК в комплексе с комплементарным олигонуклеотидом. Они подробно исследовали термодинамические характеристики получившихся конструкций. Обнаружено, что образование амидной связи (замыкание ковалентных макроциклов) в нейлон-ДНК зна-

Схема 6



DMT-TM — хлорид 4-метил-4-(4,6-диметокси-1,3,5-триазин-2-ил)морфолина; EDC — 3-(3-диметиламинопропил)-1-этилкарбодимид.

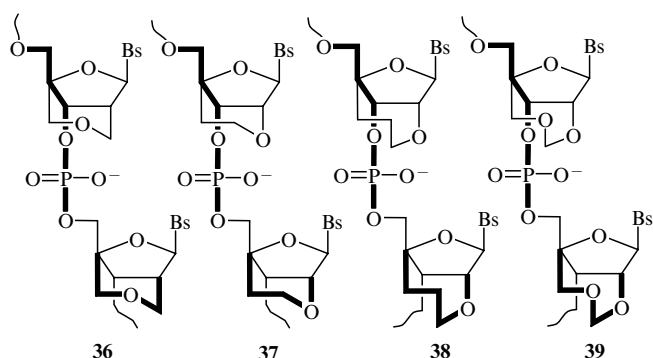
чительно увеличивает сродство таких соединений к ДНК- и к РНК-олигомерам, в то время как незамкнутые в петли олигомеры-предшественники (см. схему 6) не обладают такими свойствами.¹³⁶

2. Конформационно-ограниченные аналоги олигонуклеотидов

Поиск новых аналогов олигонуклеотидов для антисмысловой терапии, предпочтительно образующих комплексы с РНК, привел в 90-х гг. XX в. к созданию так называемых замкнутых нуклеиновых кислот (ЗНК, англ. Locked Nucleic Acid, LNA) **9** — аналогов олигонуклеотидов третьего поколения. Соединения **9** благодаря высокой термической стабильности комплементарных комплексов с природными НК¹³⁷ и коммерческой доступности получили широкое распространение как инструменты антисмысловых технологий.²² Наряду с фосфоротиоатными аналогами олигонуклеотидов ЗНК **9** проходят доклинические и клинические испытания как препараты, действующие по антисмысловому принципу.²⁷ По данным физико-химических исследований, высокая термостабильность комплементарных комплексов ЗНК определяется структурно «замороженной» конформацией углеводного остатка.¹³⁸

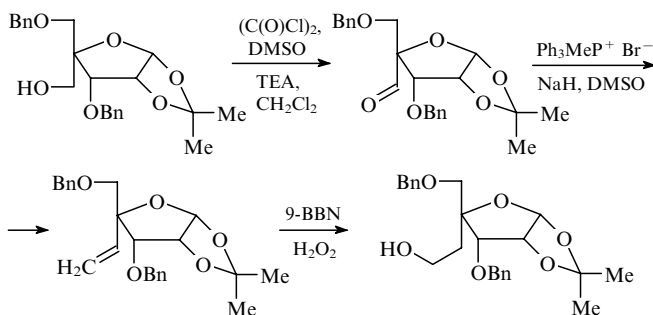
Поиск аналогов олигонуклеотидов, обладающих подобными свойствами, был продолжен и позднее. Синтезированы конформационно-ограниченные АО, содержащие мостики C(4')–C(2') длиной в четыре (олигомеры **36**, **37**)^{139–141} и пять ковалентных связей (олигомеры **38**, **39**).^{142, 143} Такие соединения получили названия мостиковых нуклеиновых кислот (МНК, англ. Bridged Nucleic Acids, BNA).

В работе¹⁴² описан синтез четырех модифицированных нуклеозидов с оксиэтиленовыми мостиками — 2'-O,4'-C-этиленовых нуклеиновых кислот **37** (ЭНК, ENA) — и тимидинового нуклеозида **38** с оксипропиленовым мостиком. Для



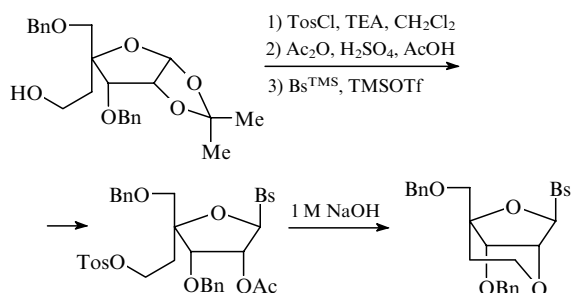
выхода к мономеру ЭНК **37** из защищенной 4'-гидроксиметилпентофуранозы в несколько стадий (окисление по Сверну, реакция Виттига, восстановление алкена в присутствии 9-боробисцикло[3.3.1]нонана (9-BBN) с последующим окислением пероксидом водорода) получали производное пентофуранозы с удлиненной цепью при атоме C(4') (схема 7).

Схема 7



Затем с помощью стандартных методов нуклеозидной химии продукт превращали в целевой нуклеозид (схема 8).

Схема 8



Bs^{TMS} — силилированное основание;
TMSOTf — триметилсилiltrифлат.

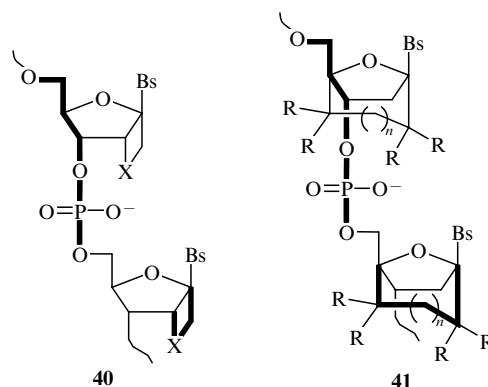
После замены бензильных защитных группы на диметокситрилитную группу и фосфитирования образовался амидофосфит целевого ЭНК-нуклеозида, который был использован в стандартном протоколе синтеза олигонуклеотидов амидофосфитным методом. Аналогичным образом был получен тимидиновый нуклеозид с оксипропиленовым линкером.

Японскими авторами с помощью различных физико-химических методов были подробно исследованы комплементарные комплексы (дуплексы и триплексы), образованные АО с разным количеством ЭНК-модифицированных звеньев.^{144, 145} Обнаружено, что оксипропиленовые нуклеозиды в аналогах **37** находятся в 3'-*эндо*-конформации, как и оксиметиленовые нуклеозиды в ЗНК-аналогах **9**. Однако имеющиеся небольшие различия в конформации приводят к тому, что в случае полностью модифицированных ЭНК-аналогов возможно образование комплементарных триплексов, в отличие от полностью модифицированных ЗНК-аналогов. Были синтезированы также фосфоротионатные и амидофосфатные ЭНК-производные олигонуклеотидов.¹⁴⁶ ЭНК-Аналоги успешно использованы как антисмысловые агенты в различных модельных системах^{147–149} и *in vivo*,¹⁵⁰ а также при анализе полиморфизма аллелей.¹⁵¹ Подробные сведения о свойствах и применении ЭНК-аналогов можно найти в обзоре^{152, 153}.

Наряду с МНК **36** и **37**, имеющими ограничивающий конформацию нуклеозида шестичленный цикл между атомами C(4') и C(2'), синтезированы АО **38** и **39** с семичленным кислородсодержащим циклом.^{142, 143} В то время как введение оксипропиленовых модифицированных звеньев (олигомеры **38**) в АО не приводит к дополнительной стабилизации комплементарных комплексов, МНК **39**, содержащие форм-ацетальную группировку, образуют комплементарные комплексы с повышенной термостабильностью по сравнению с природными олигонуклеотидами. Авторы работы¹⁴³ предполагают, что повышение гидрофильности линкера положительно сказывается на сродстве АО к комплементарным последовательностям ДНК и РНК.

Следует отметить, что в настоящее время интерес к синтезу разнообразных модифицированных нуклеозидов, в том числе имеющих конформационно-ограничивающие мостики, очень велик, что обусловлено противовирусным действием таких соединений.¹⁵⁴ В недавно вышедшем обзоре¹⁵⁵ подробно рассмотрены методы синтеза и конформации ряда таких мостиковых нуклеозидов. Некоторые нуклеозиды с ковалентным линкером между положениями 1'

и 2' (например 1'-2'-оксетаны¹⁵⁶ и 1'-2'-азетидины¹⁵⁷) были использованы для синтеза модифицированных олигомеров **40**. Кроме бициклических нуклеозидов, которые содержат в мостиковом фрагменте гетероатом (кислород или азот), синтезированы также АО **41**, имеющие насыщенные или ненасыщенные карбоциклические фрагменты,¹⁵⁸ в том числе с различными заместителями.¹⁵⁹



X = O, NH.

R = H, Me, OH; n = 0, 1.

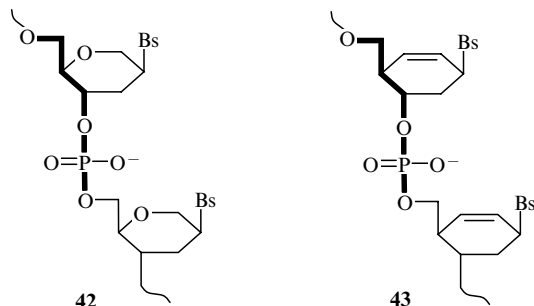
По данным работы¹⁵⁹, такие соединения обладают повышенной устойчивостью в биологических средах по сравнению с ЗНК- и ЭНК-аналогами. Для синтеза соответствующих мономеров карбоциклических конформационно-ограниченных АО **41** (карбо-ЗНК и карбо-ЭНК) авторы предлагают новый способ замыкания карбоцикла с помощью внутримолекулярной свободнорадикальной циклизации. Ранее для этих целей применяли метод ионной циклизации тозилатных эфиров (см. схему 8).

В работе¹⁶⁰ подробно изучено влияние конфигурации, величины и природы (гидрофобность–гидрофильность) заместителей при асимметрических атомах углерода в карбоциклическом мостике МНК на стабильность комплементарных дуплексов, активацию РНКазы Н, устойчивость фосфодиэфирных связей в растворе и в физиологических средах. По этим данным были выбраны 2 из 52 исследованных карбо-ЗНК и карбо-ЭНК аналогов, которые обладали высокой термостабильностью комплементарного комплекса с РНК, устойчивостью к нуклеазам и способностью стимулировать действие РНКазы Н. По мнению авторов, именно эти характеристики делают такие олигомеры идеальными кандидатами на роль потенциальных лекарственных средств антисмысловой или siРНК-терапии (siРНК — короткие интерферирующие (short interfering) РНК).¹⁶⁰

Следует отметить, что, несмотря на многостадийность (15–18 стадий) синтеза модифицированных мостиковых нуклеозидов, важна возможность получения олигомеров на их основе с помощью эффективных современных синтетических методов. Кроме того, высокая термостабильность комплементарных комплексов с участием таких олигонуклеотидов делает испытание различных МНК как антисмысловых агентов очень популярным. Последние достижения в этой области обобщены в обзоре¹⁶¹.

Стоит отметить, что синтез природных и модифицированных нуклеиновых кислот возможен не только химическими методами, но и ферментативным путем (с помощью ДНК- и РНК-полимераз). В последнем случае в качестве исходных соединений используют трифосфаты соответствующих нуклеозидов.¹⁶² В обзоре¹⁶² проанализированы

субстратные свойства трифосфатов неприродных нуклеозидов в реакции ферментативной матрично-зависимой полимеризации, антивирусная активность модифицированных трифосфатов и гибридизационные свойства соответствующих АО. Были исследованы соединения, содержащие в качестве углеводного остатка шестичленные циклы — тетрагидропирановый (42)¹⁶³ и циклогексеновый (43).¹⁶⁴



Среди перспективных для синтеза АО были выявлены соединения, например нуклеозиды L-ряда, содержащие α -L-треозу в качестве углеводного фрагмента. Для дальнейшего изучения олигомеров L-ряда синтезировали производные нуклеозидов с L-конфигурацией тетрагидропирана¹⁶⁵ и L-изомеры циклогексеновых производных.¹⁶⁶ Авторы работ^{167, 168} предприняли систематическое изучение термостабильности комплементарных комплексов, образованных АО 42 и 43 L-ряда как с природными НК, так и со своими зеркальными аналогами — соединениями D-ряда.

IV. Миметики нуклеиновых кислоты

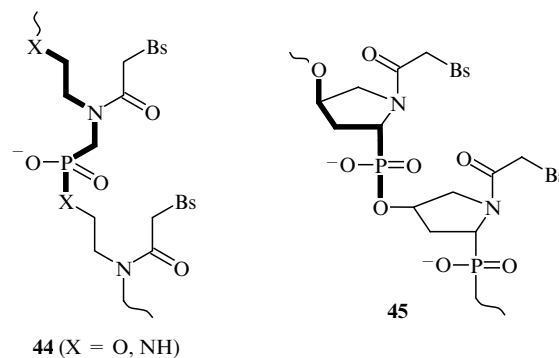
В предыдущих разделах были рассмотрены АО, модифицированные по мостику между нуклеозидами или по углеводному фрагменту нуклеозида. Известны также аналоги олигонуклеотидов, модифицированные по обоим фрагментам одновременно. В этих соединениях неизменным остается только последовательность гетероциклических оснований природных НК, способных к комплементарному взаимодействию и расположенных через равное (или регулярное) число ковалентных связей.

К таким аналогам относятся пептидо-нуклеиновые кислоты 6, морфолиновые аналоги 7 и некоторые другие олигомеры, называемые миметиками НК. Среди них наиболее необычными представляются ПНК 6, так как в этих соединениях отсутствует циклический фрагмент в остове, а в качестве линкера выступает глицин, а не остаток фосфорной кислоты. Тем не менее они обладают высоким родством к комплементарным последовательностям природных НК и устойчивостью к действию ферментов (нуклеаз, протеаз и др.). Синтез и уникальные свойства ПНК рассмотрены в обзорах^{18, 169, 170}. За последние десять лет получены новые типы ПНК: отрицательно заряженные,¹⁷¹ конформационно-ограниченные,¹⁷² протонируемые, или катионные, ПНК.¹⁷³ Эти модификации призваны повысить растворимость ПНК в воде, улучшить проникновение в клетку, структурно упорядочить модифицированные олигомеры, повысить избирательность связывания ПНК – ДНК – РНК.

1. Отрицательно заряженные пептидо-нуклеиновые кислоты

Отрицательно заряженные ПНК 44 представляют собой олигомеры, в которых карбоксамидная группировка глици-

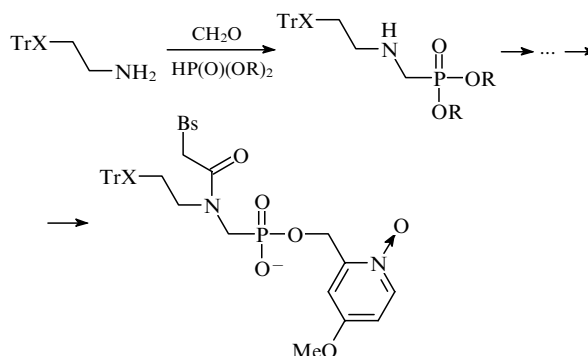
нового линкера заменена на фосфонатную или фосфонамидную группу.¹⁷⁴



Формально соединения 44 не являются пептидо-нуклеиновыми кислотами, так как в них отсутствует карбоксамидная связь в линкере, соединяющем мономерные звенья. Авторы работы¹⁷⁴ называют такие олигомеры фосфонатными аналогами ПНК (фосфоно-ПНК). В дальнейшем этот термин применялся также для конформационно-ограниченных структурных аналогов фосфонатсодержащих ПНК 45. В таких соединениях аминокислотный фрагмент линкера между мономерными звеньями ковалентно замкнут с образованием N-содержащего гетероцикла (пирролидина), а гетероциклическое основание присоединено через ацетамидную группу (в отличие от фосфонатных аналогов НК 10–17, рассмотренных в разделе II).

В статье¹⁷⁴ описан синтез защищенных фосфонатных мономеров фосфоно-ПНК, ключевой стадией которого является образование производных фосфоновой кислоты по реакции Кабачника – Филдса (схема 9).

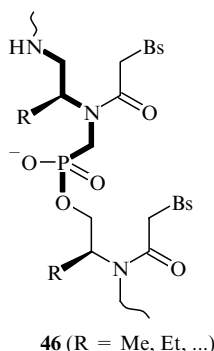
Схема 9



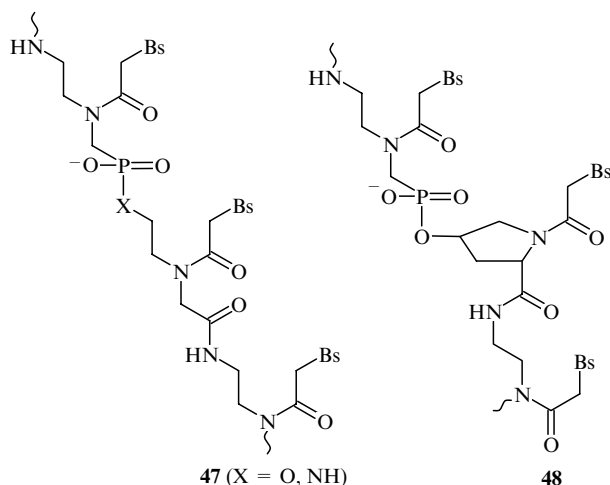
TrX = MMTrNH или DMTTrO; R = Ag или Alk.

Авторы использовали различные варианты последовательности введения гетероциклических оснований, изучили зависимость скорости конденсации мономеров от природы защитной группы фосфоновой кислоты. Найдено, что 4-метокси-1-оксидо-2-пикколильная защитная группа, являясь эффективным внутримолекулярным катализатором, существенно ускоряет реакцию конденсации с образованием фосфонодиэфирной и фосфомоноэфирмоноамидной связей в присутствии триизопропилбезолсульфо(нитро)триазолида.⁴² По аналогичной схеме были получены мономеры для синтеза олигомеров 46 с заместителями в боковой цепи, исходя из (R)-(-)-2-амино-1-бутанола и метилового эфира L-серина,¹⁷⁵ других природных аминокислот,¹⁷⁶ а также все возможные оптические изомеры для синтеза конфор-

мационно-ограниченных 1-ацетил-4-гидрокси-пирролидин-2-фосфоно-ПНК **45**.¹⁷⁷



Химерные олигомеры **47**, состоящие из фосфоно-ПНК-и ПНК-мономеров, синтезированы^{176, 178} с использованием твердофазного метода.



Предполагали, что такие олигомеры сохраняют высокое сродство к комплементарным НК и будут лучше растворяться в воде, чем ПНК. Условия деблокирования и конденсации были оптимизированы в зависимости от типа мономера (ПНК, фосфоно-ПНК) и от типа связи, образующейся в реакции конденсации (фосфоноэфирная, фосфоно-

амидная, карбоксамидная). Среди химерных олигомеров, синтезированных с использованием оптически активных фосфономонимеров, наиболее прочные комплексы с комплементарными последовательностями природных НК образуют олигомеры **48** на основе *транс*-4-гидрокси-L-пролина.¹⁷⁹ Фосфоногидроксипролиновые миметики НК и химерные олигомеры на их основе успешно применялись как инструменты для гибридизационного анализа,^{180–182} выделения информационной РНК,¹⁸³ регуляции экспрессии генов.^{171, 184}

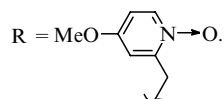
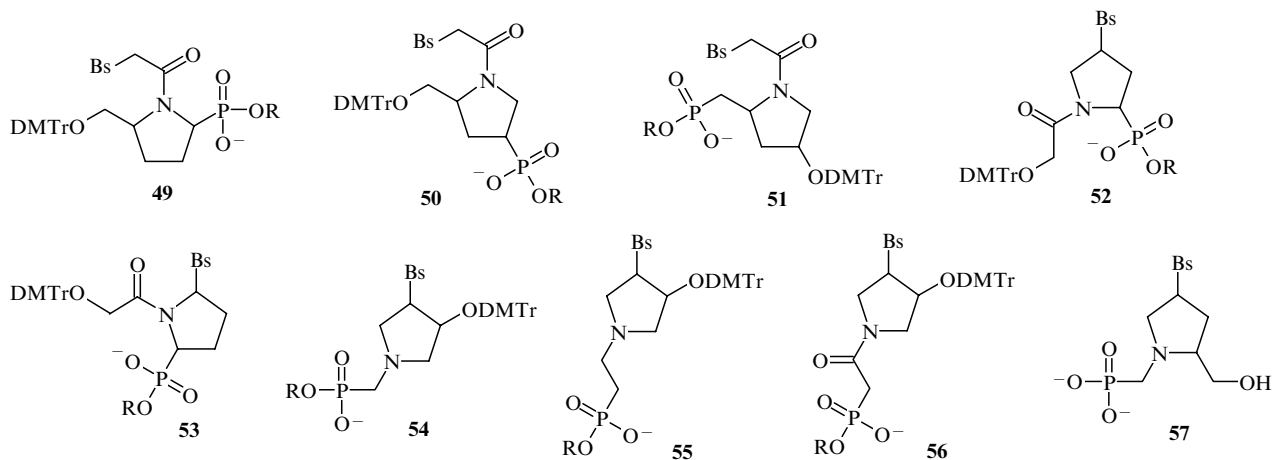
Позднее были предложены новые типы конформационно-ограниченных фосфоно-НК на основе пирролидина, в которых гидроксильная группа, гетероциклическое основание и остаток фосфоновой кислоты присоединены к различным атомам пирролидинового цикла.¹⁸⁵

В работе¹⁸⁵ описан синтез миметиков НК на основе мономеров **49–53**.

Исходя из L- или D-винной кислоты, группа чешских ученых¹⁸⁶ синтезировала все диастереомеры аналогов нуклеозидов на основе 3,4-дигидрокси-пирролидина (соединения **54–56**).

Следует отметить, что мономеры **54** и **55** содержат третичный атом азота, способный в составе олигомеров протонироваться при физиологических значениях pH. Защищенные аналоги адениновых нуклеотидов **54–56**, сконструированные на основе 3,4-дигидрокси-пирролидина, были использованы для синтеза химерных олигомеров, содержащих как природные, так и модифицированные нуклеотиды.¹⁸⁷ Конформацию аналогов нуклеозидов и нуклеотидов **56**, **57** в водном растворе интенсивно изучают методом ЯМР.^{188, 189} Синтез и свойства фосфоновых аналогов ПНК, в особенности конформационно-ограниченных, рассмотрены недавно в обзоре¹⁹⁰.

В целом, создание мономеров для синтеза отрицательно заряженных фосфоновых аналогов ПНК требует значительных усилий, однако плодотворная идея использования защитной группы фосфонатного остатка для внутримолекулярного катализа¹⁷⁴ конденсации позволила получить олигомеры различной длины. Химерные олигомеры **48**, содержащие *транс*-1-ацетил-4-гидрокси-L-пролиновые звенья, и олигомеры **45** на основе (2S,4R)-1-ацетил-4-гидрокси-пирролидин-2-фосфоновой кислоты проявили себя как высокоэффективные антисмысловые агенты.¹⁸⁵



2. Конформационно-ограниченные пептидо-нуклеиновые кислоты, в том числе протонируемые

Как известно, ПНК, обладая высоким сродством к комплементарным последовательностям ДНК/РНК, могут образовывать комплементарные комплексы практически с одинаковой стабильностью как с параллельной, так и с антипараллельной ориентацией цепей.¹⁹¹ Для того чтобы повысить избирательность ПНК как в направлении связывания, так и в предпочтительности образования комплементарных комплексов с ДНК или РНК необходимо ограничить пространственную подвижность молекулы ПНК.¹⁹² На протяжении ряда лет различными группами ученых предпринимались попытки ввести в структуру ПНК хиральные фрагменты или ограничить конформационную подвижность олигомерной цепи путем замыкания аминоктилглицинового остова ПНК в цикл различными способами.¹⁹³ В обзорах^{172, 194} рассмотрены основные типы конформационно-ограниченных аналогов ПНК **58–68**.

Поскольку известны как нейтральные олигомеры (**58, 60, 63, 64, 67, 68**), так и протонируемые при физиологических значениях pH соединения (**59, 61, 62, 65, 66**), мы не будем выделять протонируемые конформационно-ограниченные ПНК в отдельный раздел. Как правило, такие ПНК синтезируют аналогичным образом с помощью различных методов пептидной химии.¹⁸

В основе модифицированных олигомеров ПНК **58–62** лежит пятичленный пирролидиновый цикл. Исходным соединением для их синтеза служил 4-гидроксипролин, который содержит все необходимые для дальнейших превращений функциональные группы.¹⁷² В работе¹⁹⁵ с использованием разработанных ранее методов были синтезированы *D-транс*- и *L-транс*-пролиновые производные тимина **69a** (схема 10).

Введение даже одного хирального мономера в ПНК приводило к преимущественной стабилизации комплементарных дуплексов ПНК определенной ориентации, однако снижалась общая термостабильность комплексов. Авторы работы¹⁹⁶ предположили, что это обусловлено укорочением повторяющегося мотива в остове пирролидинового олигомера **58** до пяти ковалентных связей по сравнению с обычными шестью ковалентными связями рибозофосфатного остова в природных НК и с аминоктилглициновым фрагментом в ПНК. Для решения этой проблемы были предложены пирролидинкарбаматные аналоги ПНК.¹⁹⁷ Были синтезиро-

ваны олигомеры из тиминовых мономеров **69b** (конфигурация 2*S,4S*), соединенные карбаматными связями (см. схему 10). Однако температура плавления соответствующих комплементарных триплексов оказалась ниже, чем у немодифицированных ПНК.

Дополнительной стабилизации комплементарных триплексов конформационно-ограниченных ПНК по сравнению с ПНК при сохранении специфичности связывания удалось достичь, поменяв местами расположение гетероциклического основания и линкерного остатка и заменив ацетатный фрагмент в линкере на аминоктилный. При этом в структуре молекулы появился протонируемый при физиологических значениях pH третичный атом азота (см. схему 10, соединение **70a**).¹⁹⁸ В дальнейшем эта же группа авторов синтезировала производные **70a** с конфигурациями 2*S,4S* и 2*R,4S* (два из возможных четырех диастереомеров), содержащие не только тимин, но и другие гетероциклические основания, а также присоединенный по положению 7 гуанин.^{199, 200} Введение гетероциклических оснований было осуществлено путем алкилирования под действием мезилата гидроксипролина или реакцией Мицунобу, в зависимости от типа гетероциклического основания. Найдено, что стабильность химерных комплементарных дуплексов ПНК, включающих в себя конформационно-ограниченные звенья олигомера **70a**, зависит как от природы гетероциклического основания, так и от стереохимии модифицированного фрагмента ПНК. Группой китайских ученых были синтезированы аналогичный мономер с конфигурацией 2*S,4S* и аденинсодержащий олигомер **59**.²⁰¹

В работе²⁰² было обнаружено, что тиминсодержащий декамер **59** на основе замещенного пирролидина **70a**, имеющий 2*R,4R*-конфигурацию, образует комплементарный комплекс с поли-А, совершенно не связываясь с поли-дА. Обнадеживающие результаты по избирательности связывания с РНК побудили эту группу авторов продолжить свои исследования. Ими были получены мономеры **70b** (см. схему 10), из которых с использованием различных β-аминокислот в качестве линкеров между пирролидиновыми звеньями синтезированы олигомеры.²⁰³ При использовании хиральных β-аминокислот в молекуле дополнительно появлялся асимметрический центр. Оказалось, что применение 1-аминопирролидин-(2*R*)-карбоновой кислоты в качестве линкера обеспечивает избирательность связывания тиминсодержащих олигомеров с ДНК, а не с РНК.²⁰⁴ С целью более глубокого изучения влияния конфигурации и

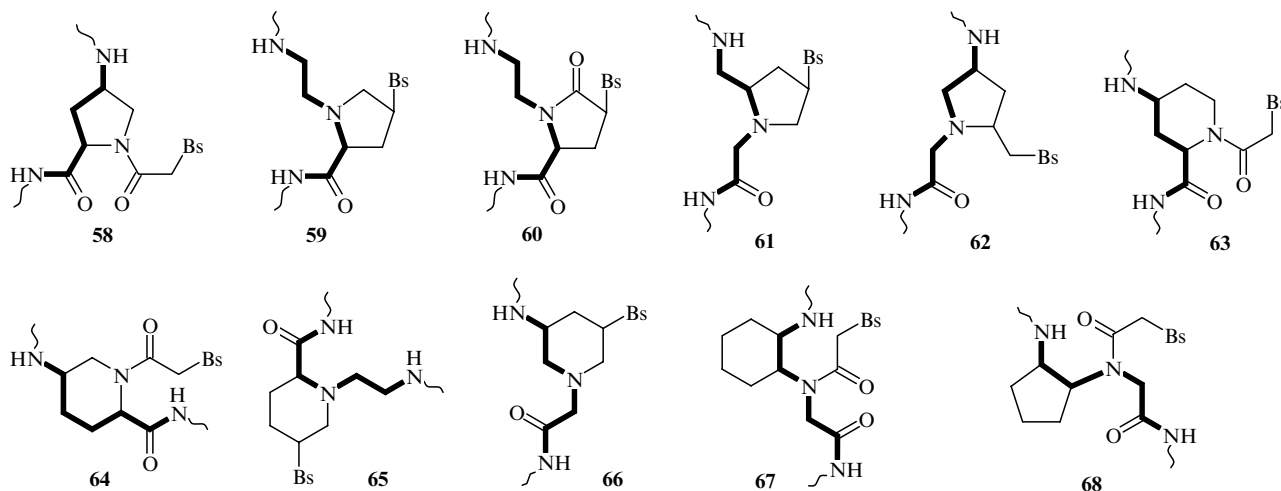
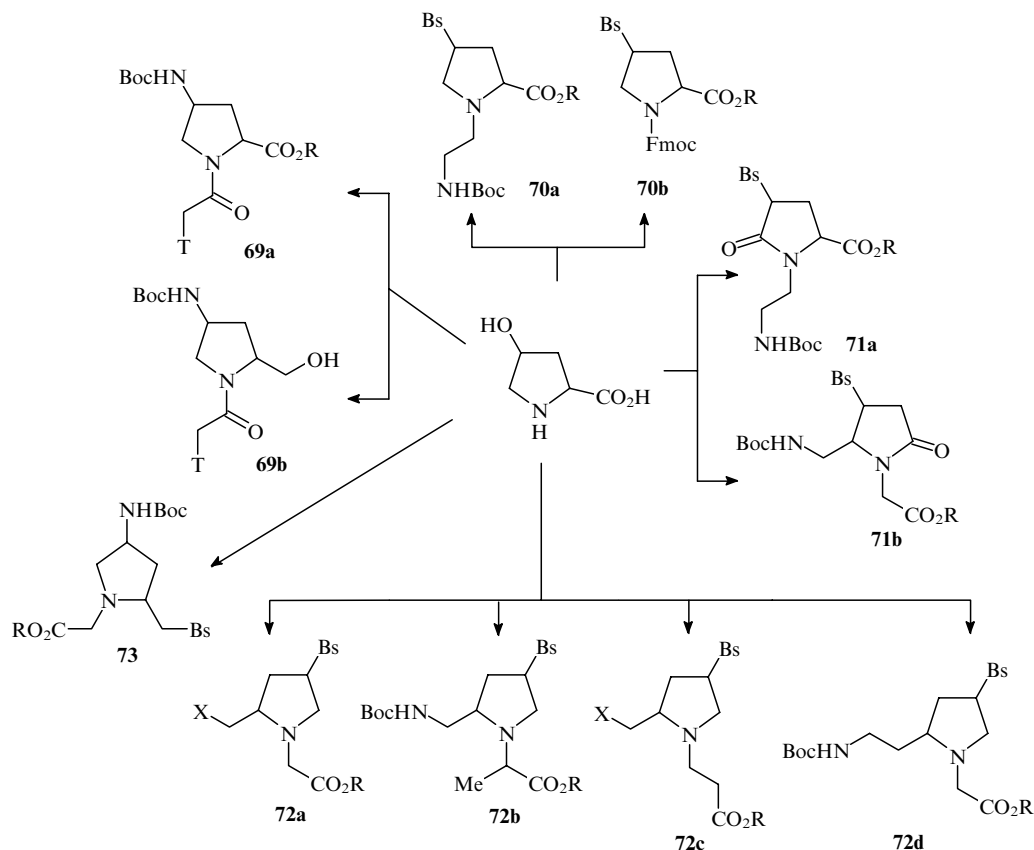


Схема 10



R = Me, Et; Boc — *tert*-бутоксикарбонил; X = BocNH, DMTrO.

природы линкера на комплементарное связывание миметиков НК были получены тиминовые олигомеры с 2-аминоциклопентанкарбоновой кислотой (все возможные изомеры) в качестве линкера.²⁰⁵ Только *S,S*-конфигурация линкерной группы обеспечивала высокоспецифичное и эффективное образование комплементарных дуплексов. Позднее были получены подобные олигомеры, содержащие все гетероциклические основания, и подтверждена способность таких соединений специфично связываться с ДНК в антипараллельной ориентации.²⁰⁶

Мономеры **71a** (см. схему 10) с конфигурацией *2S,4S* и олигомеры **60** на их основе были получены селективным окислением *N*-алкилированного пирролидина в присутствии системы $\text{RuCl}_3\text{--NaIO}_4$.^{207, 208} В этом случае конформационно-ограниченные ПНК предпочтительно связывались с ДНК по сравнению с РНК. Если же амино- и карбоксигруппы были присоединены к пирролидиновому кольцу, как в соединении **71b** (обратное присоединение, конфигурация *3S,5R*), то соответствующий аденинсодержащий олигомер предпочтительно связывался с РНК.²⁰⁹ Следует отметить, что пирролидиновые олигомеры **60** не имеют протонируемых при физиологических значениях pH атомов азота, что, в частности, приводит к плохой растворимости таких соединений в воде.

Мономеры **72a** для олигомеров **61** были предложены тремя группами ученых в работах^{210–212} (конфигурации *2S,4S*, *2R,4R*, *2R,4S*). Английские ученые с использованием таких мономеров (конфигурация *2R,4R*) синтезировали тиминсодержащий пентамер, который проявил необычную кинетически обусловленную селективность в связывании с РНК.²¹³ Аденинсодержащий пентамер, однако, обладал

таким эффектом только в небольшой степени.²¹⁴ Олигомеры **61**, содержащие все четыре гетероциклических основания, были получены позднее с использованием Fmoc- (см.²¹⁵) или Boc-защиты,²¹⁶ причем Boc-группа была признана более эффективной. Синтезированные гетероолигомеры, однако, не проявляли предпочтительности в направлении связывания комплементарных цепей и в отношении связывания с РНК или ДНК.

Для «тонкой подстройки» конформации комплементарных комплексов был введен, подобно рассмотренным выше аналогам из работ^{204, 205}, дополнительный хиральный центр в линкерную часть молекулы (см. схему 10, соединение **72b**).²¹⁷ Кроме того, было предложено удлинить линкер на одно метиленовое звено и получить соединения **72c,d** (конфигурация *2R,4R*).²¹⁸ В случае соединения **72d** достигнуто предпочтительное РНК-связывание модифицированных ПНК.

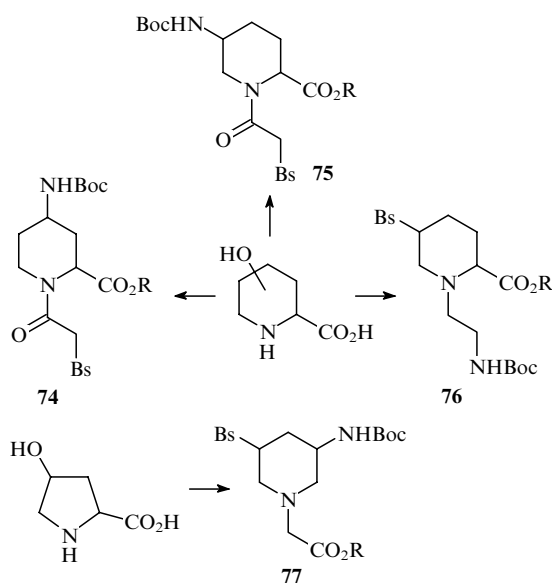
Химерные олигомеры, содержащие природные нуклеотиды и пирролидиновые звенья **72a** (конфигурация пирролидинового производного *2S,4S* или *2R,4R*, комбинация защитных групп адаптирована для амидофосфитного метода синтеза ДНК или для синтеза ПНК), не образовывали термостабильных комплементарных комплексов с ДНК или РНК.²¹¹ Введение дополнительной метиленовой группы в линкер (мономеры **72b**, конфигурация *2S,4S*) привело к устранению эффекта дестабилизации комплексов химерных олигомеров при включении мономеров **72b** как в ДНК,²¹⁹ так и в ПНК, причем предпочтительно образовывался комплекс с РНК.²²⁰

Подробное изучение влияния стереохимии пирролидинового звена **73** (см. схему 10) и последовательности химерных ПНК **62** на стабильность и предпочтительность

ориентации комплементарных дуплексов проведено в работе²²¹. В случае тиминсодержащих мономеров синтезированы все 4 возможных диастереомера **73**, для других гетероциклических оснований получены *2R,4S*-изомеры. Дополнительная метиленовая группа между пирролидиновым кольцом и гетероциклическим основанием должна была обеспечить большую конформационную подвижность гетероцикла при образовании комплементарного комплекса. Обнаружено разнонаправленное влияние диастереомерии на термическую стабильность комплементарных дуплексов и триплексов. Введение *4R*-диастереомеров стабилизировало дуплекс, в то время как введение *4S*-диастереомеров дестабилизировало. В случае комплексов РНК выявлено предпочтительное связывание в антипараллельной ориентации с соединениями *S,S*- и *R,R*-конфигураций пирролидинового фрагмента. Соединения с конфигурацией *2R,4S* не проявляли предпочтительности в отношении связывания с ДНК или РНК.

Параллельно с исследованием пирролидиновых ПНК для изучения олигомеров **63–66** индийскими учеными²²² были синтезированы модифицированные ПНК-мономеры **74–77**, содержащие пиперидиновый цикл (схема 11).

Схема 11



R = Me, Et.

Авторы предполагали, что введение метиленового мостика в аминопропилглициновые ПНК с образованием шестичленного азотсодержащего цикла компенсирует излишнюю конформационную подвижность этого типа миметиков НК. В работе²²², исходя из защищенной 4-гидроксипепеколиновой кислоты, был получен *2S,4S*-диастереомер тиминового мономера **74**, использованный для синтеза модифицированных ПНК **63**. Однако введение такого мономера в ПНК дестабилизировало комплементарный триплекс.

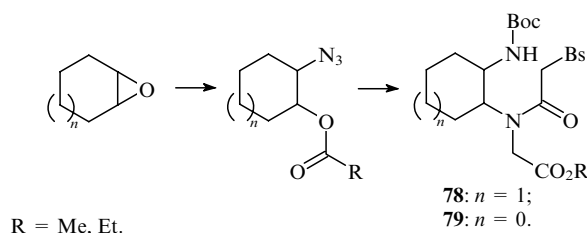
Позднее были получены 2,5-замещенные производные (*2S,5R*)-**75** для синтеза модифицированных ПНК **64**.²²³ Введение мономера такого типа в ПНК в общем случае приводило к некоторой стабилизации или незначительной дестабилизации триплексов. В работе²²³ было также подробно изучено влияние введения мономеров **74**, **75** в ПНК на комплементарное взаимодействие с ДНК и с РНК в дуплек-

сах. В этом случае наблюдалось понижение температуры плавления комплексов, а также отсутствовала предпочтительная ориентация комплементарного связывания.

На схеме 11 представлен еще один вариант дизайна модифицированных мономеров для конформационно-ограниченных ПНК — соединение **76** (конфигурации *2S,5R* и *2R,5S*).^{224, 225} Химерные ПНК **65**, содержащие мономеры **76**, как правило, образовывали более стабильные комплементарные комплексы. Для синтеза олигомеров **66** были предложены также мономеры **77** (*3S,5S* и *3R,5R*).^{226, 227} Полученные из 4-гидроксипролина (см. схему 11). Мономеры **77**, введенные в ПНК-олигомер, дополнительно стабилизировали комплементарный триплекс.

В обзоре²²⁸ проанализированы параметры возможных комплементарных комплексов, образованных модифицированными НК с шестичленными циклами (циклогексановыми, циклогексеновыми, тетрагидропирановыми) вместо фуранозы. На основании данных по пространственной структуре комплементарных триплексов и дуплексов авторы работы²²⁹ предположили, что введение в структуру ПНК модифицированных мономеров с насыщенным шестичленным карбоциклом (олигомеры **67**) с 1,2-расположением заместителей в *cis*-ориентации может привести к различной термической стабильности комплементарных комплексов с ДНК и с РНК. Исходным соединением для синтеза соответствующих мономеров **78** (конфигурация *1S,2R* или *1R,2S*) служил 1,2-эпоксидциклогексан (схема 12), ключевой стадией синтеза был энантиоселективный ферментативный гидролиз рацемата 1-ацилокси-2-азидоциклогексана.

Схема 12



R = Me, Et.

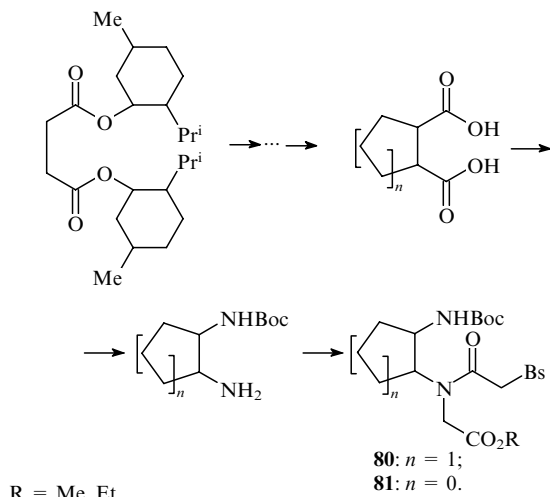
Для более широкого изучения пространственной структуры комплементарных комплексов по аналогичной схеме из 1,2-эпоксидциклопентана был синтезирован модифицированный ПНК-мономер **79** с пятичленным карбоциклом (конфигурация *1S,2R* или *1R,2S*).²³⁰ Исследовались химерные олигомеры ПНК, включающие *cis*-циклогексил- (**78**) и *cis*-циклопентилкарбоциклические модифицированные ПНК-мономеры (**79**). В результате было обнаружено, что несмотря на некоторую общую дестабилизацию, олиготимин-ПНК, содержащая модифицированный циклогексильный мономер **78** в *1S,2R*-конфигурации, предпочтительно связывалась с РНК.²³¹ В случае гетеросодержащих[‡] последовательностей ПНК введение мономеров **78** как *1S,2R*-, так и *1R,2S*-конфигураций приводило к весьма значительной дискриминации связывания ДНК/РНК.²³² В отличие от *cis*-циклогексильных аналогов **78** введение *cis*-циклопентилсодержащих мономеров **79** в олиготимин-ПНК приводило к существенной стабилизации комплементарных комплексов.²³³ При введении мономеров *cis*-**79** в гетеросодержащие ПНК-последовательности наблюдалась стабилизация комплементарных

[‡] Гетеросодержащие последовательности — последовательности с различными гетероциклическими основаниями.

комплексов, однако заметной дискриминации ДНК/РНК-связывания обнаружено не было.²³⁴

Другой группой авторов был описан карбоциклический мономер **80** с пятичленным циклом и *транс*-ориентацией заместителей (конфигурация 1*S*,2*S*) (схема 13).²³⁵

Схема 13



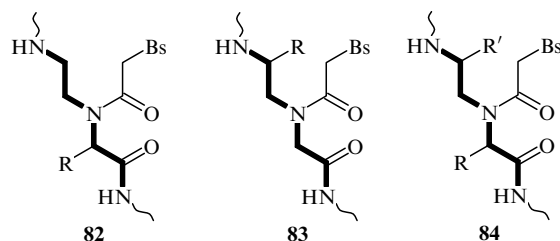
Исходным соединением для его синтеза служил (–)-диметилэтер янтарной кислоты. Ключевыми стадиями являлись асимметрическое алкилирование исходного соединения дитозилатом пропан-1,3-диола с построением циклопентанового кольца и последующим разделением диастереомеров и образование моно-Вос-защищенного 1,2-диаминоциклопентана. В дальнейшем метод синтеза моно-Вос-защищенного 1,2-диаминоциклопентана был существенно усовершенствован, а также были получены соответствующие цитозин-, аденин- и гуанинсодержащие мономеры.²³⁶ Позднее по аналогичной схеме был синтезирован карбоциклический мономер **81** с пропановым циклом и *транс*-ориентацией заместителей (конфигурация 1*S*,2*S*).²³⁷ Включение в ПНК мономеров **80**, содержащих 1,2-замещенный пятичленный цикл (конфигурация 1*S*,2*S*), приводило к стабилизации комплементарных ПНК/ДНК-дуплексов, триплексов и квадруплексов.²³⁸ Авторам работы²³⁹ удалось продемонстрировать повышение чувствительности и избирательности определения ДНК при включении модифицированного мономера в последовательность ПНК-зонда, что позволило уменьшить длину олигомеров, необходимых для детектирования.²⁴⁰

В заключение данного раздела следует отметить, что широкое изучение конформационно-ограниченных ПНК способствовало появлению десятков новых разнообразных соединений. Дополнительно к рассмотренным выше можно назвать мономеры с четырехчленным азетиридиновым циклом²⁴¹ и 1,1-замещенные циклопентановые производные.²⁴² К сожалению, большинство модификаций приводило к дестабилизации комплементарных комплексов, тем не менее в некоторых случаях удавалось добиться дискриминации ПНК/ДНК/РНК-связывания либо повышения термостабильности комплементарных комплексов. Несмотря на отдельные интересные результаты, широкому применению конформационно-ограниченных ПНК препятствует сложность синтеза мономеров. В связи с этим в недавно опубликованных работах^{243,244} особое внимание уделяется олигомерам, построенным из упрощенных мономеров, синтез

которых не требует больших усилий, а также аналогам, полученным с помощью матрично-зависимого ферментативного синтеза из трифосфатов модифицированных мономеров или ПНК, собранным на матрице НК.

3. Другие замещенные производные пептидо-нуклеиновых кислот, в том числе положительно заряженные

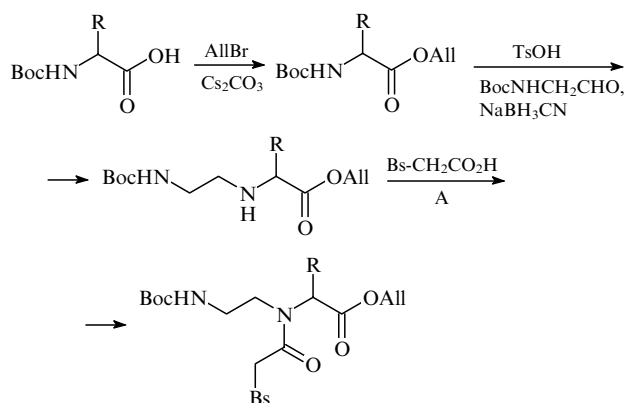
Как уже отмечалось выше, в отсутствие комплементарных олигомеров ПНК в растворе не обладают упорядоченной структурой.¹⁷⁰ Одним из возможных путей повышения термостабильности комплементарных комплексов и специфичности связывания является придание ПНК-олигомеру спиральной конформации введением в остов заместителей с одновременным созданием хиральных центров. Замещение возможно в глициновом фрагменте (α -замещение, олигомеры **82**), аминоэтильном фрагменте (γ -замещение, олигомеры **83**), а также в обоих положениях (олигомеры **84**).¹⁹³



$\text{R, R}' = \text{Bu}^i, (\text{CH}_2)_4\text{NH}_2, (\text{CH}_2)_2\text{CO}_2\text{H}, (\text{CH}_2)_4\text{NHC}(\text{NH}_2)\text{NH}_2^+, \text{CH}_2\text{OH}$ и др.

Группой итальянских и датских ученых было предпринято систематическое изучение замещенных ПНК. Химерные ПНК **82**, содержащие тиминовые хиральные α -замещенные мономеры, описаны в работе²⁴⁵. Вместо глицина для синтеза мономеров авторы использовали лейцин, лизин, аспарагиновую и глутаминовую кислоты L- и D-рядов (схема 14).

Схема 14



$\text{R} = \text{Bu}^i$ и др.; $\text{Bs-CH}_2\text{CO}_2\text{H}$ — карбоксиалкилированное основание; A — конденсирующий агент.

Обнаружено, что в общем случае D-конфигурация аминокислоты способствует формированию правозакрученной спирали модифицированной ПНК в растворе и, следовательно, образованию комплементарных комплексов с правозакрученными природными НК, в то время как L-конфигурация существенно дестабилизирует комплексы. Под-

робно строение комплементарного комплекса модифицированной ПНК, содержащей три последовательных D-лизиновых остатка, изучено с помощью рентгеноструктурного анализа и спектроскопии КД (КД — круговой дихроизм).^{246, 247} Синтез тимин-, аденин- и цитозинсодержащих D-лизиновых α -замещенных мономеров описан в работе²⁴⁸. D-Лизиновые остатки способствуют исключительно антипараллельной ориентации комплементарных комплексов гетеро-ПНК. Повышенная по сравнению с ПНК и ДНК специфичность D-лизинсодержащих аналогов в гибридизационном анализе была продемонстрирована в работах^{249, 250}.

Для повышения оптической чистоты модифицированных ПНК была предложена так называемая стратегия субмономеров, когда гетероциклическое основание вводится после присоединения универсального модифицированного звена к растущей олигомерной цепи в процессе твердофазного синтеза.²⁵¹ Для того чтобы дополнительно усилить структурирование модифицированных ПНК, эти же авторы синтезировали γ -лизинзамещенное производное **83** и α,γ -лизинзамещенные производные **84** с двумя хиральными центрами.²⁵²

При синтезе γ -замещенных производных вместо Вос-
защищенного аминокетальдегида на стадии восстанови-
тельного аминирования (см. схему 14) использовали лизин-
замещенный альдегид, полученный восстановлением
соответствующего *N*-метил-*N*-метоксамида. Гетероцикли-
ческое основание вводили после включения субмономера в
растущую цепь олигомера. В отличие от α -замещенных
ПНК, в случае γ -заместителя образованию комплементар-
ного комплекса способствовала *L*-конфигурация остатка
лизина. В случае α -замещенных *D*-лизинсодержащих моди-
фицированных ПНК показано, что короткие олигомеры **82**,
содержащие 2–4 мономерных звена с *D*-лизиновыми остат-
ками, способны эффективно внедряться в двойную спираль
ДНК.²⁵³ Этой же группой авторов получены интересные
результаты, свидетельствующие о возможности применения
коротких олигомеров (декамеров) как эффективных инстру-
ментов для гибрилизационного анализа.^{254, 255}

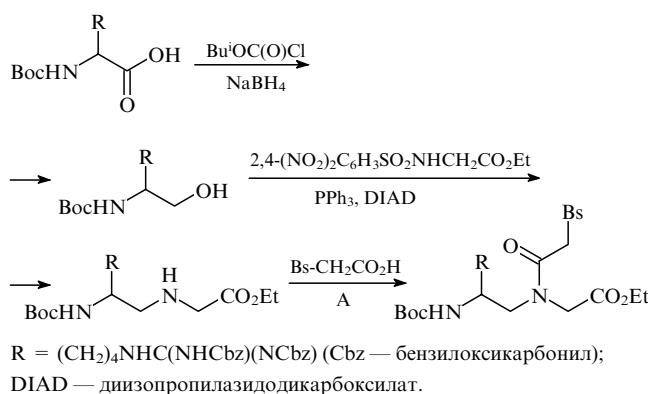
Для получения катионных олигомеров в работе²⁵⁶ были предложены α -замещенные ПНК **82**, содержащие гуанидиновый остаток. При синтезе этих соединений по схеме 14 в качестве линкера вместо глицина использовали аргинин. Олиготиминовый гуанидинсодержащий декамер **82** специфически связывался с ДНК, а также эффективно проникал в клетки.²⁵⁶ Позднее той же группой авторов были синтезированы соединения с другими гетероциклическими основаниями, а также не только с остатком аргинина природной L-конфигурации, но и с D-конфигурацией.²⁵⁷ Обнаружено, что химерные ПНК, содержащие чередующиеся ПНК-мономеры и мономеры с остатками D-аргинина, специфично связываются с РНК и проникают в клетки. Похожие результаты были получены и для комплексов с ДНК в случае гетеропоследовательностей.²⁵⁸ В дальнейшем было показано, что антисмысловые химерные олигомеры, содержащие чередующиеся ПНК-мономеры и мономеры с остатками D-аргинина, специфически подавляют транскрипцию гена Е-кадгерина человека, а также являются менее токсичными, чем аналогичные ПНК-олигомеры, конъюгированные с остатками аргинина.²⁵⁹

Наряду с рассмотренными α - и γ -замещенными катионными и протонируемыми производными синтезированы γ -замещенные соединения **83** с простыми боковыми заместителями. Были получены модифицированные ПНК, содержащие остатки L-серина и L-аланина.²⁶⁰ Предполагалась, что

образование гидроксигруппой бокового заместителя водородных связей в водном растворе будет способствовать упорядочению пространственной структуры хиральных ПНК. Необходимый для синтеза альдегид был получен по стандартной схеме восстановлением соответствующего *N*-метил-*N*-метоксиамида из защищенного серинового производного. Подробное изучение конформации модифицированного аланинового СТ-ПНК-димера в растворе методом ЯМР показало, что введение в γ -положение заместителей L-конфигурации способствует образованию в растворе правозакрученной спиральной структуры. Введение таких модифицированных мономеров повышает температуру плавления комплементарных ПНК/ДНК- и ПНК/РНК-дуплексов. Возможность внедрения γ -замещенных ПНК-олигомеров, имеющих в растворе структуру правозакрученной спирали, в двойную спираль ДНК показана в работах^{261–263}

В статье²⁶⁴ описано новое поколение гуанидиновых ПНК. В отличие от соединений, полученных ранее с использованием D-аргинина таким образом, чтобы заместитель находился в α -положении (олигомеры **82**, см. схему 14),²⁵⁷ для синтеза новых аналогов использовали L-аминокислоту, а заместитель в конечном счете вступал в γ -положение (олигомеры **83**). Для построения скелета мономера авторы работы²⁶⁴ вместо реакции восстановительного аминирования с соответствующим альдегидом применили реакцию Мицунобу. При конденсации соответствующего спирта с защищенным производным глицина повышалась оптическая чистота продукта (схема 15).

Схема 15



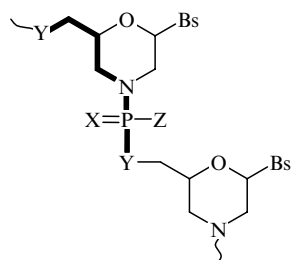
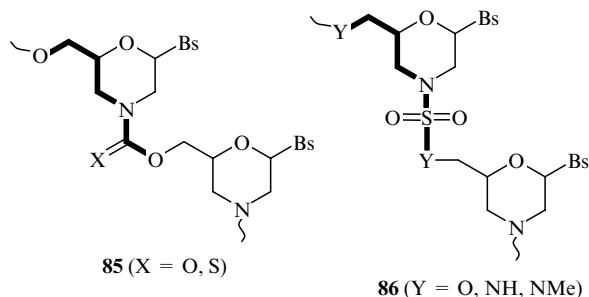
Введение гуанидинового остатка в γ -положение существенно увеличило термостабильность комплементарных комплексов по сравнению с ранее изученными соединениями с гуанидиновыми заместителем в α -положении.

Таким образом, получить мономеры хиральных ПНК **82–84** сравнительно несложно, а синтез олигомеров аналогичен синтезу ПНК. При этом были получены многообещающие результаты для использования таких миметиков НК в гибридизационном анализе и в регуляции экспрессии генов.^{255, 259, 265} Введение в ПНК боковых заместителей с различными функциональными группами дает дополнительные возможности для присоединения к АО репортерных (сигнальных) соединений²⁶⁵ и для решения других задач, например химического лигирования олигомеров ПНК.²⁶⁶

4. Морфолиновые олигомеры

Одними из самых успешных миметиков НК в области регуляции экспрессии генов следует признать морфолиновые аналоги олигонуклеотидов 7. Первоначально американ-

скими учеными были предложены олигомеры с различными линкерами между мономерными звеньями — (тио)карбаматными (**85**), сульфаматными и сульфамидными (**86**), фосфорильными (**87**).²⁶⁷

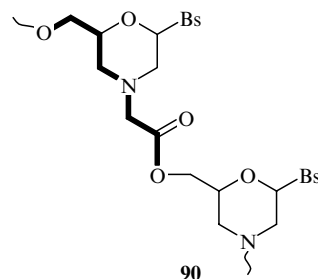
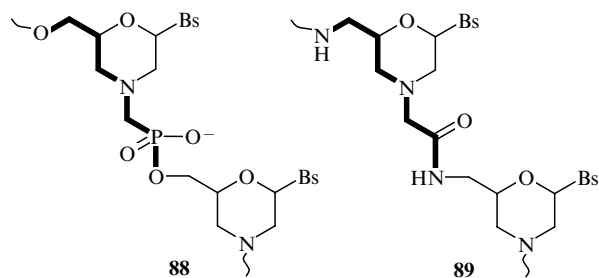


87 (X = O, S; Y = O, NH, NMe; Z = NAlk₂).

Впоследствии, однако, самыми удачными производными с точки зрения эффективности синтеза, растворимости в воде, способности образовывать комплементарные комплексы с природными НК были признаны диметиламиноморфолинофосфатные производные **7**. И это несмотря на наличие дополнительного хирального атома фосфора в молекуле, вследствие чего олигомеры такого типа обычно представляют собой рацемическую смесь 2ⁿ диастереомеров, где *n* — число фосфатных групп.²⁶⁸

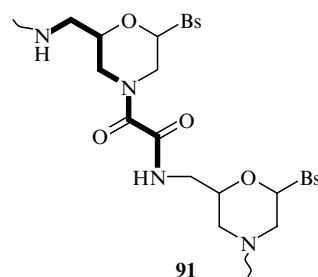
В обзорах^{269,270} рассмотрены последние достижения в использовании морфолиновых миметиков НК как антисмысловых агентов. Особенно успешным следует признать применение морфолиновых АО как инструментов регуляции экспрессии генов в ходе эмбрионального развития различных организмов, преимущественно *Danio rerio*.²⁷¹ Некоторые антисмысловые морфолиновые АО проходят сейчас клинические испытания.²⁷

Диметиламиноморфолинофосфатные АО **7** в настоящее время коммерчески доступны. Работы по созданию морфолиновых АО с другими линкерными группами между мономерами за последнее десятилетие сравнительно немногочисленны. Авторами статьи²⁷² были синтезированы морфолиновые мономеры и соответствующие ахиральные олигомеры **88–90**, содержащие метиленфосфонатный, метиленкарбоксамидный или метиленкарбоксилатный линкер между мономерами.



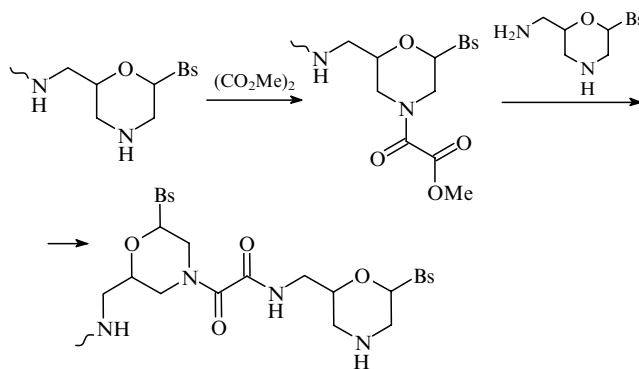
Было обнаружено, что в то время как наличие фосфонатной связи приводит к значительной дестабилизации комплементарных комплексов с ДНК, введение карбоксамидных и карбоксилатных групп повышает температуру плавления комплементарных комплексов либо незначительно их дестабилизирует по сравнению с природными соединениями.

В работе²⁷³ описан новый тип морфолиновых миметиков НК **91**, содержащих оксалилдиамидный линкер.



Интересно, что синтез таких олигомеров можно проводить без защиты аминогрупп гетероциклических оснований (схема 16), что существенно упрощает методику получения олигомеров.

Схема 16



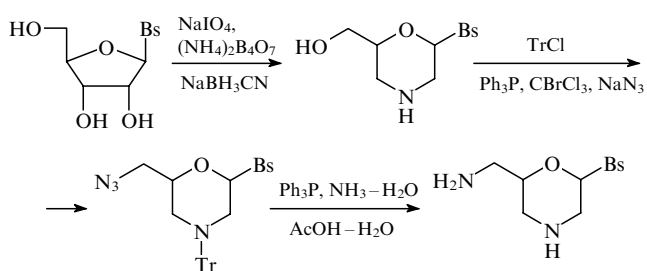
Недавно была предложена упрощенная схема синтеза аминометилморфолиновых мономеров исходя из незащищенных рибонуклеозидов (схема 17).

Получены также все четыре Вос-защищенных 2-аминометил-4-карбоксиметилморфолиновых мономера, необходимых для синтеза олигомеров **89** (схема 18).²⁷⁴

Авторы работы²⁷⁴ предполагают продолжить работы по синтезу метиленкарбоксамидных морфолиновых АО.

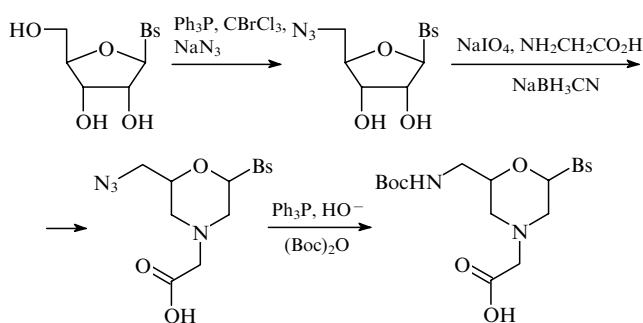
Известно, что моноэтерифицированные моноамиды фосфорной кислоты легко гидролизуются в слабокислых условиях (рН 4.0). Тем не менее недавно китайским ученым

Схема 17

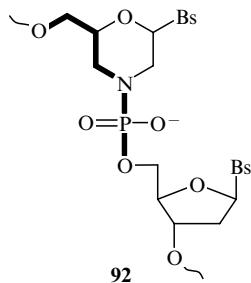


Bs = U, A, C, G.

Схема 18

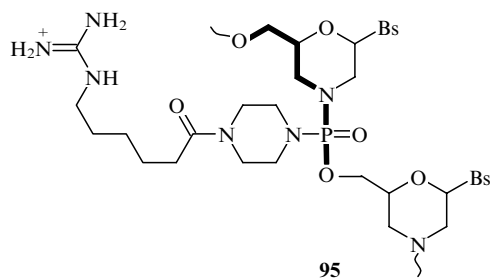
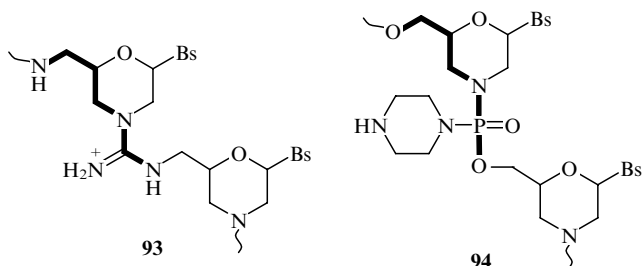
Bs = U, A^{Bz} (6-*N*-бензоиладенин), C^{Bz} (4-*N*-бензоилцитозин), G^{Bu^t} (2-*N*-изобутирилгуанин).

удалось синтезировать химерные дезоксирибоолигонуклеотиды **92**, содержащие морфолинофосфатные звенья.²⁷⁵



Модифицированное звено вводили в молекулу стандартным амидофосфитным методом с использованием *N*-морфолино(диизопропиламида)-2-цианоэтилфосфитного производного. Химерные олигодезоксирибонуклеотиды были стабильны в водных растворах при pH > 7.0. Позднее эти же авторы получили химерные олигорибонуклеотиды, использованные для изучения интерференции РНК в клетках млекопитающих.²⁷⁶

В последнее время синтезированы новые положительно заряженные и протонируемые при физиологических значениях pH морфолиновые миметики НК **93–95**.



В работе²⁷⁷ описаны химерные олигодезоксирибонуклеотиды **93**, содержащие одно модифицированное морфолиновое звено с гуанидиниевым линкером. В то время как введение модифицированного звена на 3'-конец олигомера незначительно стабилизировало комплементарный дуплекс, введение звена в середину олигомера приводило к значительному понижению стабильности. Однако при pH 6.0–7.0 модифицированные комплементарные триплексы оказались существенно стабильнее немодифицированных. Другими авторами были синтезированы протонируемые при физиологическом значении pH пиперазиновые (**94**)²⁷⁸ и катионные гуанидинсодержащие (**95**)²⁷⁹ морфолиновые олигомеры. Гуанидинсодержащие миметики НК **95** *in vitro* и *in vivo* более эффективно ингибировали рост бактерий *Escherichia coli*, чем пиперазиновые протонируемые соединения **94**. Конъюгирование морфолиновых миметиков НК **94** и **95** с мембрано-проникающими пептидами дополнительно повышало эффективность ингибирования.

Учитывая относительную простоту получения и активное применение морфолиновых миметиков НК в молекулярной биологии и медицине,²⁸⁰ в ближайшем будущем следует ожидать появления новых работ, связанных с синтезом таких аналогов.

V. Заключение

В данном обзоре мы попытались рассмотреть основные достижения в дизайне АО, оптимизированных в основном для использования как антисмысловых агентов для регуляции экспрессии генов и для анализа генетической информации. Попытки прямого экспериментального сравнения антисмыслового действия тех или иных модификаций в олигонуклеотидах в модельных системах на культурах клеток были сделаны только в немногих работах (см., например,^{281, 282}). Так, интернациональным коллективом авторов было исследовано действие 21 типа химической модификации на активность siРНК-дуплексов в подавлении экспрессии eGFP в модельной системе клеток HeLa.²⁸² Среди 2160 изученных дуплексов было идентифицировано 134 аналога siРНК, обладающих большей активностью, чем природные siРНК, причем только 26 из них не снижали выживаемости клеток. Авторам удалось сформулировать правила химической функционализации, способствующей увеличению активности модифицированных интерферирующих РНК и уменьшению их токсичности для клеток. Понятно, что механизм РНК-интерференции является только одним из возможных путей регуляции экспрессии генов. Трудно представить себе, какой объем экспериментальной работы может потребоваться при прямой экспериментальной проверке других подходов, при сравнении результатов между собой, при переходе от модельных систем экспрессии eGFP к реальным задачам и живым организмам. Кроме того, оптимальная структура АО и миметиков НК, вероятно, будет изменяться в зависимости от решаемой задачи.

Разнообразие проблем, стоящих перед молекулярными биологами, определяет потребность в разных типах химических структур АО. Многообразие производных, полученных к настоящему времени, ограничено только фантазией и мастерством химиков-синтетиков. Аналоги олигонуклеотидов, рассмотренные в разделе II, особенно соединения 18–27, 29, не содержащие фосфатной группы между нуклеозидами (неионные и положительно заряженные АО), более сложны с синтетической точки зрения, чем соединения из раздела III. В последнем случае проблемы получения олигомеров в основном связаны с разработкой эффективного метода синтеза необходимых мономеров в достаточном количестве. Для доставки отрицательно заряженных АО в клетки необходимы дополнительные специальные средства,^{31–34} что существенно затрудняет применение таких аналогов *in vivo*. Миметики НК, рассмотренные в разделе IV, как правило, требуют значительных усилий как при синтезе мономеров, так и при сборке мономеров в олигомерную последовательность. Эти усилия могут быть оправданы, если эффект от применения таких олигомеров существенно (по крайней мере, в десятки и сотни раз) превосходит таковой для других типов аналогов. Дальнейшие прямые сравнительные исследования применения АО и миметиков НК для регуляции экспрессии генов и в диагностике могут помочь выработке критериев эффективности действия.

С нашей точки зрения, материал по ДНК/РНК-терапии, накопленный в научной литературе к настоящему времени (по 5000–7000 научных публикаций в год по базе PubMed в период 2005–2008 гг.),²⁷ не позволяет сделать однозначного выбора не только в пользу конкретной структуры, но даже в пользу определенного типа аналогов олигонуклеотидов. Тем не менее, если говорить о возможном применении АО и миметиков НК в терапии инфекционных и наследственных заболеваний, одним из важнейших критериев структуры олигомеров будет стоимость и экономическая целесообразность производства будущего лекарства. Не случайно до клинических испытаний дошли только те соединения, производство которых может быть осуществлено в промышленном масштабе. Одними из наиболее эффективных олигомеров в экспериментах по регуляции экспрессии генов являются морфолиновые миметики НК.²⁷⁰ Синтез мономеров для таких аналогов несложен, исходные вещества (рибонуклеозиды) доступны. Нам представляется, что усилия по разработке новых типов морфолиновых АО могут быть весьма плодотворными.

Работа выполнена в рамках программы «Ведущие научные школы» (проект НШ-3185.2010.4) и при поддержке Междисциплинарного интеграционного проекта №88 Президиума Сибирского отделения Российской академии наук.

Литература

1. V.Holoubek, L.Fanshier, T.T.Crocher. *Exp. Cell Res.*, **44**, 362 (1962)
2. M.C.Niu, L.C.Niu, A.Guha. *Proc. Soc. Exp. Biol. Med.*, **128**, 550 (1968)
3. C.B.Reese. *Org. Biomol. Chem.*, **3**, 3851 (2005)
4. J.Pitha, P.M.Pitha, E.Stuart. *Biochemistry*, **10**, 4595 (1971)
5. M.G.Boulton, A.S.Jones, R.T.Walker. *Biochim. Biophys. Acta*, **246**, 197 (1971)
6. G.J.Couling, A.S.Jones, R.T.Walker. *Biochim. Biophys. Acta*, **254**, 452 (1971)
7. A.S.Jones. *Int. J. Biol. Macromol.*, **1**, 194 (1979)
8. B.S.Sproat. *J. Biotechnol.*, **41**, 221 (1995)
9. C.Hélène, J.-J.Toulmé. *Biochim. Biophys. Acta*, **1049**, 99 (1990)
10. R.V.Giles, D.G.Spiller, J.A.Green, R.E.Clark, D.M.Tidd. *Blood*, **86**, 744 (1995)
11. M.Koziolekiewicz, A.Wilk. In *Protocols for Oligonucleotides and Analogues. Synthesis and Properties. Methods in Molecular Biology. Vol. 20.* (Ed. S.Agrawal). Humana Press, Totowa, NJ, 1993. P. 207
12. P.S.Miller, C.D.Cushman, J.T.Levis. In *Oligonucleotides and Analogues. A Practical Approach. (The Practical Approach Series).* (Ed. F.Eckstein). Oxford University Press, New York, 1991. P. 137
13. R.F.Schinazi, Z.J.Lesnikowski. *Nucleosides Nucleotides*, **17**, 635 (1998)
14. G.Zon. In *Protocols for Oligonucleotides and Analogues. Synthesis and Properties. Methods in Molecular Biology. Vol. 20.* (Ed. S.Agrawal). Humana Press, Totowa, NJ, 1993. P. 165
15. B.S.Sproat, A.I.Lamond. In *Oligonucleotides and Analogues. A Practical Approach. (The Practical Approach Series).* (Ed. F.Eckstein). Oxford University Press, New York, 1991. P. 49
16. R.I.Hogrefe. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.*, **9**, 351 (1999)
17. *Antisense Research and Applications.* (Eds S.T.Crooke, B.Lebou). CRC Press, Boca Raton, FL, 1993
18. С.И.Анцыпович. *Успехи химии*, **71**, 81 (2002) [*Russ. Chem. Rev.*, **71**, 71 (2002)]
19. J.Summerton, D.Weller. *Antisense Nucleic Acid Drug Dev.*, **7**, 187 (1997)
20. J.Summerton. *Biochim. Biophys. Acta*, **1489**, 141 (1999)
21. S.M.Gryaznov. *Biochim. Biophys. Acta*, **1489**, 131 (1999)
22. M.Petersen, J.Wengel. *Trends Biotechnol.*, **21**, 74 (2003)
23. J.Micklefield. *Curr. Med. Chem.*, **8**, 1157 (2001)
24. J.Kurreck. *Eur. J. Biochem.*, **270**, 1628 (2003)
25. A.V.Aershot. *Antiviral Res.*, **71**, 307 (2006)
26. D.A.Braasch, D.R.Corey. *Biochemistry*, **41**, 4504 (2002)
27. E.R.Rayburn, R.Zhang. *Drug Discov. Today*, **13**, 513 (2008)
28. R.Juliano, J.Bauman, H.Kang, X.Ming. *Mol. Pharmacol.*, **6**, 686 (2009)
29. *Antisense Drug Technology: Principles, Strategies, and Application.* (2nd Ed.) (Ed. S.T.Crooke). CRC Press, Boca Raton, FL, 2008
30. N.Venkatesan, B.H.Kim. *Chem. Rev.*, **106**, 3712 (2006)
31. H.Lönnberg. *Bioconjugate Chem.*, **20**, 1065 (2009)
32. A.Gissot, M.Campo, M.W.Grinstaff, P.Barthélémy. *Org. Biomol. Chem.*, **6**, 1324 (2008)
33. G.De Rosa, M.I.La Rotonda. *Molecules*, **14**, 2801 (2009)
34. C.B.Reese, H.Yan. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 2619 (2002)
35. Z.S.Chervuvalleth, R.L.Carty, M.N.Moore, D.C.Capaldi, A.H.Krotz, P.D.Wheeler, B.J.Turney, S.R.Craig, H.J.Gaus, A.N.Scozzary, D.L.Cole, V.T.Ravikumar. *Org. Process Res. Dev.*, **4**, 199 (2000)
36. J.-Y.Tang, Y.Han, J.X.Tang, Z.Zhang. *Org. Process Res. Dev.*, **4**, 194 (2000)
37. Q.Song, Z.Wang, Y.S.Sanghvi. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 629 (2003)
38. V.T.Ravikumar, R.K.Kumar, D.C.Capaldi, D.L.Cole. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1421 (2003)
39. Z.Wang, P.Olsen, V.T.Ravikumar. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **26**, 259 (2007)
40. W.J.Stec, Z.J.Lesnikowski. In *Protocols for Oligonucleotides and Analogues. Synthesis and Properties. Methods in Molecular Biology. Vol. 20.* (Ed. S.Agrawal). Humana Press, Totowa, NJ, 1993. P. 285
41. H.Almer, T.Szabo, J.Stawinski. *Chem. Commun.*, 290 (2004)
42. V.A.Efimov, A.A.Buryakova, I.Y.Dubey, N.N.Polushin, O.G.Chakhmakhcheva, Yu.A.Ovchinnikov. *Nucleic Acids Res.*, **13**, 6525 (1986)
43. V.A.Efimov, N.S.Molchanova, O.G.Chakhmakhcheva. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **26**, 1087 (2007)
44. Y.Lu. *Mini-Rev. Med. Chem.*, **6**, 319 (2008)

45. L.Cummins, D.Graff, G.Beaton, W.S.Marshall, M.H.Caruthers. *Biochemistry*, **35**, 8734 (1996)
46. M.Olesiak, W.J.Stec, A.Okruszek. *Org. Biomol. Chem.*, **7**, 2162 (2009)
47. F.Eckstein. *Annu. Rev. Biochem.*, **54**, 367 (1985)
48. B.R.Shaw, J.Madison, A.Sood, B.F.Spielvogel. In *Protocols for Oligonucleotides and Analogues. Synthesis and Properties. Methods in Molecular Biology. Vol. 20.* (Ed. S.Agrawal). Humana Press, Totowa, NJ, 1993. P. 225
49. P.Li, Z.A.Sergueeva, M.Dobrikov, B.R.Shaw. *Chem. Rev.*, **107**, 4746 (2007)
50. T.Wada, M.Shimizu, N.Oka, K.Saigo. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1171 (2003)
51. M.Shimizu, T.Wada, N.Oka, K.Saigo. *J. Org. Chem.*, **69**, 5261 (2004)
52. M.Shimizu, K.Saigo, T.Wada. *J. Org. Chem.*, **71**, 4262 (2006)
53. Y.Enya, S.Nagata, Y.Masutomi, H.Kitagawa, K.Takagaki, N.Oka, T.Wada, T.Ohgi, J.Yano. *Bioorg. Med. Chem.*, **16**, 9154 (2008)
54. T.Kawanaka, M.Shimizu, N.Shintani, T.Wada. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **18**, 3783 (2008)
55. T.Wada, Y.Maizuru, M.Shimizu, N.Oka, K.Saigo. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 3111 (2006)
56. N.Iwamoto, N.Oka, T.Wada. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **53**, 9 (2009)
57. T.J.Matray, S.M.Gryaznov. *Nucleic Acids Res.*, **27**, 3976 (1999)
58. B.-S.Herbert, K.Pongracz, J.W.Shay, S.M.Gryaznov. *Oncogene*, **21**, 638 (2002)
59. K.Pongracz, S.Li, B.-S.Herbert, R.Pruzan, E.Wunder, A.Chin, M.Piatyszek, J.Shay, S.M.Gryaznov. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1627 (2003)
60. S.M.Gryaznov. *Chem. Biodiv.*, **7**, 477 (2010)
61. V.A.Efimov, M.V.Choob, A.L.Kalinkina, O.G.Chakhmakhcheva. *Nucleosides Nucleotides*, **16**, 1475 (1997)
62. D.Rejman, M.Masojkova, I.Rosenberg. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **23**, 1683 (2004)
63. H.An, T.Wang, M.A.Maier, M.Manoharan, B.S.Ross, P.D.Cook. *J. Org. Chem.*, **66**, 2789 (2001)
64. Š.Králíková, M.Masojkova, M.Buděšínský, I.Rosenberg. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 329 (2003)
65. S.Králíková, M.Buděšínský, I.Rosenberg. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1061 (2003)
66. Z.Točík, I.Bravík Jr., M.Buděšínský, I.Rosenberg. *Biopolymers*, **83**, 400 (2006)
67. Z.Točík, M.Buděšínský, I.Bravík Jr., I.Rosenberg. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **52**, 427 (2008)
68. O.Páv, M.Buděšínský, I.Rosenberg. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1053 (2003)
69. M.Petrová, Š.Králíková, M.Buděšínský, I.Rosenberg. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **52**, 591 (2008)
70. I.Kóšiová, I.Rosenberg. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **52**, 569 (2008)
71. R.Liboska, M.Petrová, R.Pohl, M.Buděšínský, V.Hurychová, I.Rosenberg. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **52**, 317 (2008)
72. R.M.Crooke. In *Antisense Research and Applications.* (Eds S.T.Crooke, B.Lebleu). CRC Press, Boca Raton, FL, 1993. P. 427
73. M.Prhavy, B.Bhat, G.Just, P.D.Cook, M.Manoharan. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **20**, 995 (2001)
74. X.Yang, X.Han, C.Cross, S.Bare, Y.Sanghvi, X.Gao. *Biochemistry*, **38**, 12586 (1999)
75. J.Micklefield, K.J.Fettes. *Tetrahedron*, **54**, 2129 (1998)
76. K.J.Fettes, N.Howard, D.T.Hickman, S.A.Adah, M.R.Player, P.F.Torrence, J.Micklefield. *Chem. Commun.*, 765 (2000)
77. K.J.Fettes, N.Howard, D.T.Hickman, S.Adah, M.R.Player, P.F.Torrence, J.Micklefield. *J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1*, 485 (2002)
78. N.J.Caplen. *Gene Ther.*, **11**, 1241 (2004)
79. A.DeMesmaeker, A.Waldner, J.Lebreton, V.Fritsch, R.M.Wolf. In *Carbohydrate Modifications in Antisense Research. (ACS Symp. Ser. Vol. 580).* (Eds Y.S.Sanghvi, P.D.Cook). Am. Chem. Soc., Washington, DC, 1994. P. 24
80. M.A.Peterson, B.L.Nilsson, S.Sarker, B.Doboszewski, W.Zhang, M.J.Robins. *J. Org. Chem.*, **65**, 8183 (1999)
81. С.В.Кочеткова, А.М.Варижук, Н.А.Колганова, Э.Н.Тимофеев, В.Л.Флорентьев. *Биоорг. химия*, **35**, 76 (2009)
82. С.В.Кочеткова, А.М.Варижук, Н.А.Колганова, Э.Н.Тимофеев, В.Л.Флорентьев. *Биоорг. химия*, **35**, 202 (2009)
83. А.М.Варижук, С.В.Кочеткова, Н.А.Колганова, Э.Н.Тимофеев, В.Л.Флорентьев. *Биоорг. химия*, **35**, 650 (2009)
84. E.Rozners, Y.Liu. *J. Org. Chem.*, **70**, 9841 (2005)
85. R.Threlfall, A.Devies, N.M.Howarth, J.Fisher, R.Cosstick. *Chem. Commun.*, 585 (2008)
86. J.B.Epp, T.S.Widlanski. *J. Org. Chem.*, **64**, 293 (1999)
87. V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *Curr. Top. Med. Chem.*, **7**, 715 (2007)
88. V.A.Efimov, A.A.Buryakova, O.G.Chakhmakhcheva. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **8**, 1013 (1998)
89. С.В.Кочеткова, Н.А.Колганова, Э.Н.Тимофеев, В.Л.Флорентьев. *Биоорг. химия*, **34**, 506 (2008)
90. С.В.Кочеткова, Е.А.Филиппова, Н.А.Колганова, Э.Н.Тимофеев, В.Л.Флорентьев. *Биоорг. химия*, **34**, 227 (2008)
91. K.Gogoi, A.D.Gunjal, V.A.Kumar. *Chem. Commun.*, 2373 (2006)
92. K.Gogoi, A.D.Gunjal, U.D.Phalgune, V.A.Kumar. *Org. Lett.*, **9**, 2697 (2007)
93. S.Gokhale, V.A.Kumar. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **52**, 145 (2008)
94. H.Kaur, A.Arora, K.Gogoi, P.Solanke, A.D.Gunjal, V.A.Kumar. *J. Phys. Chem. B*, **113**, 2944 (2009)
95. K.Gogoi, V.A.Kumar. *Chem. Commun.*, 706 (2008)
96. S.Bagmare, M.D'Costa, V.A.Kumar. *Chem. Commun.*, 6646 (2009)
97. P.S.Pallan, P.von Matt, C.J.Wilds, K.-H.Altmann, M.Egli. *Biochemistry*, **45**, 8048 (2006)
98. F.Debart, S.Abes, G.Deglane, H.M.Moulton, P.Clair, M.J.Gait, J.-J.Vasser, B.Lebleu. *Curr. Top. Med. Chem.*, **7**, 727 (2007)
99. S.V.Kochetkova, E.N.Timofeev, E.A.Korobeinikova, N.A.Kolganova, V.L.Florentiev. *Tetrahedron*, **57**, 10287 (2001)
100. R.O.Dempcy, Ö.Almarsson, T.C.Bruice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **91**, 7864 (1994)
101. D.A.Barawkar, T.C.Bruice. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **95**, 11047 (1998)
102. B.A.Linkletter, T.C.Bruice. *Bioorg. Med. Chem.*, **8**, 1893 (2000)
103. P.M.Reddy, T.C.Bruice. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**, 1281 (2003)
104. H.Challa, T.C.Bruice. *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 1475 (2004)
105. I.E.Szabo, T.C.Bruice. *Bioorg. Med. Chem.*, **12**, 4233 (2004)
106. J.W.Toporowski, S.Y.Reddy, T.C.Bruice. *Bioorg. Med. Chem.*, **13**, 3691 (2005)
107. M.L.Jain, T.C.Bruice. *Bioorg. Med. Chem.*, **14**, 7333 (2006)
108. J.W.Toporowski, S.Y.Reddy, T.C.Bruice. *Biophys. Chem.*, **126**, 132 (2007)
109. C.Richert, A.L.Roughton, S.A.Benner. *J. Am. Chem. Soc.*, **118**, 4518 (1996)
110. Z.Huang, S.A.Benner. *J. Org. Chem.*, **67**, 3996 (2002)
111. D.Sheehan, B.Lunstad, C.M.Yamada, B.G.Stell, M.H.Caruthers, D.J.Deliger. *Nucleic Acids Res.*, **31**, 4109 (2003)
112. C.M.Yamada, D.J.Delinger, M.H.Caruthers. *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 5251 (2006)
113. E.Rozners, D.Katkevica, R.Strömberg. *ChemBioChem*, **8**, 537 (2007)
114. A.Kolarovic, E.Schweizer, E.Greene, M.Gironda, P.S.Pallan, M.Egli, E.Rozners. *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 14932 (2009)
115. N.M.Bell, J.Micklefield. *ChemBioChem*, **10**, 2691 (2009)

116. M.Egli, P.S.Pallan. *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.*, **36**, 281 (2007)
117. Т.С.Зацепин, Е.А.Романова, Т.С.Орецкая. *Успехи химии*, **71**, 586 (2002) [*Russ. Chem. Rev.*, **71**, 513 (2002)]
118. Т.С.Зацепин, Е.А.Романова, Т.С.Орецкая. *Успехи химии*, **73**, 757 (2004) [*Russ. Chem. Rev.*, **73**, 701 (2004)]
119. A.A.Koshkin, S.K.Singh, P.Nielsen, V.K.Rajwanshi, R.Kumar, M.Meldgaard, C.E.Olsen, J.Wengel. *Tetrahedron*, **54**, 3607 (1998)
120. T.P.Prakash, A.M.Kawasaki, E.V.Wancewicz, L.Shen, B.P.Monia, B.S.Ross, B.Bhat, M.Manoharan. *J. Med. Chem.*, **51**, 2766 (2008)
121. T.P.Prakash, M.Manoharan, A.M.Kawasaki, A.S.Fraser, E.A.Lesnik, N.Sioufi, J.M.Leeds, M.Teplova, M.Egli. *Biochemistry*, **41**, 11642 (2002)
122. M.Prhac, T.P.Prakash, G.Minasov, P.D.Cook, M.Egli, M.Manoharan. *Org. Lett.*, **5**, 2017 (2003)
123. M.Prhac, E.A.Lesnik, V.Mohan, M.Manoharan. *Tetrahedron Lett.*, **42**, 8777 (2001)
124. T.P.Prakash, A.M.Kawasaki, E.A.Lesnik, S.R.Owens, M.Manoharan. *Org. Lett.*, **5**, 403 (2003)
125. R.Pattanayek, L.Sethaphong, C.Pan, M.Prhac, T.P.Prakash, M.Manoharan, M.Egli. *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 15006 (2004)
126. M.Egli, G.Minasov, V.Tereshko, P.S.Pallan, M.Teplova, G.B.Inamati, E.A.Lesnik, S.R.Owens, B.S.Ross, T.P.Prakash, M.Manoharan. *Biochemistry*, **44**, 9045 (2005)
127. P.S.Pallan, M.Egli. *Nat. Protoc.*, **2**, 647 (2007)
128. T.P.Prakash, M.Manoharan, A.S.Fraser, A.M.Kawasaki, E.A.Lesnik, S.R.Owens. *Tetrahedron Lett.*, **41**, 4855 (2000)
129. T.P.Prakash, A.Püschel, E.Lesnik, V.Mohan, V.Tereshko, M.Egli, M.Manoharan. *Org. Lett.*, **6**, 1971 (2004)
130. T.P.Prakash, B.Bhat. *Curr. Top. Med. Chem.*, **7**, 641 (2007)
131. T.S.Zatsepin, E.A.Romanova, D.A.Stetsenko, M.J.Gait, T.S.Oretskaya. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1383 (2003)
132. P.E.Burmeister, C.Wang, J.R.Killough, S.D.Lewis, L.R.Horwitz, A.Ferguson, K.M.Thomson, P.S.Pendergrast, T.G.McCauley, M.Kurz, J.Diener, S.T.Cload, C.Wilson, A.D.Keefe. *Oligonucleotides*, **16**, 337 (2006)
133. N.C.Seeman. *Trends Biochem. Sci.*, **30**, 119 (2005)
134. N.C.Seeman. *Chem. Biol.*, **10**, 1151 (2003)
135. L.Zhu, P.S.Lukeman, J.W.Canary, N.C.Seeman. *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 10178 (2003)
136. Y.Liu, R.Wang, L.Ding, R.Sha, P.S.Lukeman, J.W.Canary, N.C.Seeman. *ChemBioChem*, **9**, 1641 (2008)
137. D.A.Braasch, D.R.Corey. *Chem. Biol.*, **8**, 1 (2001)
138. K.Bondensgaard, M.Petersen, S.K.Singh, V.K.Rajwanshi, R.Kumar, J.Wengel, J.P.Jacobsen. *Chem. – Eur. J.*, **6**, 2687 (2000)
139. G.Wang, E.Gunic, J.-L.Girardet, V.Stoisavljevic. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **9**, 1147 (1999)
140. K.Morita, C.Hasegawa, M.Kaneko, S.Tsutsumi, J.Sone, T.Ishikawa, T.Imanishi, M.Koizumi. *Nucleic Acids Suppl.*, **1**, 241 (2001)
141. K.Morita, C.Hasegawa, M.Kaneko, S.Tsutsumi, J.Sone, T.Ishikawa, T.Imanishi, M.Koizumi. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **12**, 73 (2002)
142. K.Morita, M.Takagi, C.Hasegawa, M.Kaneko, S.Tsutsumi, J.Sone, T.Ishikawa, T.Imanishi, M.Koizumi. *Bioorg. Med. Chem.*, **11**, 2211 (2003)
143. Y.Hari, S.Obika, R.Ohnishi, K.Eguchi, T.Osali, H.Ohishi, T.Imanishi. *Bioorg. Med. Chem.*, **14**, 1029 (2006)
144. M.Koizumi, K.Morita, M.Daigo, S.Tsutsumi, K.Abe, S.Obika, T.Imanishi. *Nucleic Acids Res.*, **31**, 3267 (2003)
145. M.Koizumi. *Biol. Pharm. Bull.*, **27**, 453 (2004)
146. M.Horie, K.Morita, J.Kawakami, O.Ando, M.Koizumi. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **25**, 231 (2006)
147. K.Morita, K.Yamate, S.-i.Kurakata, K.Watanabe, T.Imanishi, M.Koizumi. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1619 (2003)
148. A.Surono, T.V.Khanh, Y.Takeshima, H.Wada, M.Yagi, M.Takagi, M.Koizumi, M.Matsuo. *Human Gene Ther.*, **15**, 749 (2004)
149. K.Morita, K.Yamate, S.-i.Kurakata, K.Abe, K.Watanabe, M.Koizumi, T.Imanishi. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **25**, 503 (2006)
150. M.Koizumi, M.Takagi-Sato, R.Okuyama, K.Araki, W.Sun, D.Nakai. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **51**, 111 (2007)
151. M.Koizumi, K.Morita, M.Takagi, H.Yasuno, A.Kasuya. *Anal. Biochem.*, **340**, 287 (2005)
152. M.Koizumi. *Curr. Opin. Mol. Ther.*, **8**, 144 (2006)
153. M.Takagi-Sato, S.Tokihito, R.Kawaida, M.Koizumi. *Oligonucleotides*, **17**, 291 (2007)
154. E.De Clercq. *J. Clin. Virol.*, **30**, 115 (2004)
155. C.Mathé, C.Périgaud. *Eur. J. Org. Chem.*, 1489 (2008)
156. P.I.Pradeepkumar, P.Cheluk, O.Plashkevych, P.Acharya, S.Gohil, J.Chattopadhyaya. *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 11484 (2004)
157. D.Honcharenko, O.P.Varghese, O.Plashkevych, J.Barman, J.Chattopadhyaya. *J. Org. Chem.*, **71**, 299 (2006)
158. N.Albæk, M.Petersen, P.Nielsen. *J. Org. Chem.*, **71**, 7731 (2006)
159. P.Srivastava, J.Barman, W.Pathmasiri, O.Plashkevych, M.Wenska, J.Chattopadhyaya. *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 8362 (2007)
160. C.Zhou, Y.Liu, M.Andaloussi, N.Badgajar, O.Plashkevych, J.Chattopadhyaya. *J. Org. Chem.*, **74**, 118 (2009)
161. H.Kaur, B.R.Babu, S.Maiti. *Chem. Rev.*, **107**, 4672 (2007)
162. P.Herdewijn. *Antiviral Res.*, **71**, 317 (2006)
163. A.Van Aerschot, A.Marchand, G.Schepers, W.Van den Eynde, J.Rozenski, R.Busson, P.Herdewijn. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1227 (2003)
164. K.Nauwelaerts, E.Lescrinier, G.Sclep, P.Herdewijn. *Nucleic Acids Res.*, **33**, 2452 (2005)
165. D.D'Alonzo, A.Guaragna, A.Van Aerschot, P.Herdewijn, G.Palumbo. *Tetrahedron Lett.*, **49**, 6068 (2008)
166. P.Gu, G.Schepers, J.Rozenski, A.Van Aerschot, P.Herdewijn. *Oligonucleotides*, **13**, 479 (2003)
167. K.Robeyns, P.Herdewijn, L.Van Meervelt. *J. Am. Chem. Soc.*, **130**, 1979 (2008)
168. D.D'Alonzo, A.Van Aerschot, A.Guaragna, G.Palumbo, G.Schepers, S.Capone, J.Rozenski, P.Herdewijn. *Chem. – Eur. J.*, **15**, 10121 (2009)
169. P.E.Nielsen. *Acc. Chem. Res.*, **32**, 624 (1999)
170. V.V.Demidov, M.D.Frank-Kamenetskii. *Trends Biochem. Sci.*, **29**, 62 (2004)
171. V.A.Efimov, O.G.Chakhmakhcheva, E.Wickstrom. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **24**, 1853 (2005)
172. V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *Acc. Chem. Res.*, **38**, 404 (2005)
173. J.I.Yeh, B.Shivachev, S.Rapireddy, M.J.Crawford, R.R.Gil, S.Du, M.Madrid, D.H.Ly. *J. Am. Chem. Soc.*, **132**, 10717 (2010)
174. В.А.Ефимов, А.А.Бурякова, М.В.Чуб, О.Г.Чухмахчева. *Биоорг. химия*, **24**, 696 (1998)
175. V.A.Efimov, M.V.Choob, A.A.Buryakova, O.G.Chakhmakhcheva. *Nucleosides Nucleotides*, **17**, 1671 (1998)
176. V.A.Efimov, A.A.Buryakova, M.V.Choob, O.G.Chakhmakhcheva. *Nucleosides Nucleotides*, **18**, 1393 (1999)
177. V.A.Efimov, V.N.Klykov, O.G.Chakhmakhcheva. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 593 (2003)
178. V.A.Efimov, M.V.Choob, A.A.Buryakova, A.L.Kalinkina, O.G.Chakhmakhcheva. *Nucleic Acids Res.*, **26**, 566 (1998)
179. В.А.Ефимов, А.А.Бурякова, М.В.Чуб, О.Г.Чухмахчева. *Биоорг. химия*, **25**, 611 (1999)
180. V.Efimov, M.Choob, A.Buryakova, D.Phelan, O.Chakhmakhcheva. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **20**, 419 (2001)

181. V.A.Efimov, A.A.Buryakova, O.G.Chakhmakhcheva. *Nucleic Acids Res.*, **27**, 4416 (1999)
182. В.А.Ефимов, О.Г.Чухмакхчева. *Биоорг. химия*, **25**, 848 (1999)
183. D.Phelan, K.Hondorp, M.Choob, V.Efimov, J.Fernandez. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **20**, 1107 (2001)
184. V.A.Efimov, K.R.Birikh, D.B.Staroverov, S.A.Lukyanov, M.B.Tereshina, A.G.Zaraisky, O.G.Chakhmakhcheva. *Nucleic Acids Res.*, **34**, 2247 (2006)
185. V.A.Efimov, V.N.Klykov, O.G.Chakhmakhcheva. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **26**, 1595 (2007)
186. D.Rejman, P.Kočalka, M.Buděšínský, R.Pohl, I.Rosenberg. *Tetrahedron*, **63**, 1243 (2009)
187. D.Rejman, P.Kočalka, R.Pohl, Z.Točík, I.Rosenberg. *Collect. Czech. Chem. Commun.*, **74**, 935 (2009)
188. V.Vaněk, M.Buděšínský, M.Rinnová, I.Rosenberg. *Tetrahedron*, **65**, 862 (2009)
189. D.Rejman, R.Pohl, P.Kočalka, M.Masojídková, I.Rosenberg. *Tetrahedron*, **65**, 3673 (2009)
190. В.А.Ефимов, А.В.Аралов, О.Г.Чухмакхчева. *Биоорг. химия*, **36**, 725 (2010)
191. P.E.Nielsen, M.Egholm, O.Buchardt. *Bioconjugate Chem.*, **5**, 3 (1994)
192. V.A.Kumar. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1045 (2003)
193. R.Corradini, S.Sforza, T.Tedeschi, F.Totsingan, R.Marchelli. *Curr. Top. Med. Chem.*, **7**, 681 (2007)
194. V.A.Kumar. *Eur. J. Org. Chem.*, 2021 (2002)
195. B.P.Gangamani, V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *Tetrahedron*, **55**, 177 (1999)
196. Meena, V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **20**, 1193 (2001)
197. Meena, V.A.Kumar. *Bioorg. Med. Chem.*, **11**, 3393 (2003)
198. M.D'Costa, V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *Org. Lett.*, **1**, 1513 (1999)
199. M.D'Costa, V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *Org. Lett.*, **3**, 1281 (2001)
200. V.A.Kumar, M.D'Costa, K.N.Ganesh. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **20**, 1187 (2001)
201. Y.Li, T.Jin, K.Liu. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **20**, 1705 (2001)
202. T.Vilaivan, C.Khongdeesameor, P.Harnyuttanakorn, M.S.Westwell, G.Lowe. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **10**, 2541 (2000)
203. T.Vilaivan, C.Suparpprom, P.Harnyuttanakorn, G.Lowe. *Tetrahedron Lett.*, **42**, 5533 (2001)
204. T.Vilaivan, G.Lowe. *J. Am. Chem. Soc.*, **124**, 9326 (2002)
205. C.Suparpprom, C.Srisuwannaket, P.Sangvanich, T.Vilaivan. *Tetrahedron Lett.*, **46**, 2833 (2005)
206. T.Vilaivan, C.Srisuwannaket. *Org. Lett.*, **8**, 1897 (2006)
207. N.K.Sharma, K.N.Ganesh. *Chem. Commun.*, 2484 (2003)
208. N.K.Sharma, K.N.Ganesh. *Tetrahedron Lett.*, **45**, 1403 (2004)
209. A.Püschl, T.Boesen, G.Zuccarello, O.Dahl, S.Pitsch, P.E.Nielsen. *J. Org. Chem.*, **66**, 707 (2001)
210. A.Püschl, T.Tedeschi, P.E.Nielsen. *Org. Lett.*, **2**, 4161 (2000)
211. V.Kumar, P.S.Pallan, Meena, K.N.Ganesh. *Org. Lett.*, **3**, 1269 (2001)
212. D.T.Hickman, P.M.King, M.A.Cooper, J.M.Slaterb, J.Micklefield. *Chem. Commun.*, 2251 (2000)
213. D.T.Hickman, T.H.S.Tan, J.Morral, P.M.King, M.A.Cooper, J.Micklefield. *Org. Bioorg. Chem.*, **1**, 3277 (2003)
214. T.H.S.Tan, D.T.Hickman, J.Morral, I.G.Beadham, J.Micklefield. *Chem. Commun.*, 516 (2004)
215. T.H.S.Tan, R.J.Worthington, R.G.Pritchard, J.Morral, J.Micklefield. *Org. Biomol. Chem.*, **5**, 239 (2007)
216. R.J.Worthington, A.P.O'Rourke, J.Morral, T.H.S.Tan, J.Micklefield. *Org. Biomol. Chem.*, **5**, 249 (2007)
217. A.I.Khan, T.H.S.Tan, J.Micklefield. *Chem. Commun.*, 1436 (2006)
218. R.J.Worthington, N.M.Bell, R.Wong, J.Micklefield. *Org. Biomol. Chem.*, **6**, 92 (2008)
219. V.A.Kumar, Meena. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1101 (2003)
220. T.Govindaraju, V.A.Kumar. *Chem. Commun.*, 495 (2005)
221. P.S.Lonkar, K.N.Ganesh, V.A.Kumar. *Org. Biomol. Chem.*, **2**, 2604 (2004)
222. P.S.Lonkar, V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **20**, 1197 (2001)
223. P.S.Lonkar, V.A.Kumar. *J. Org. Chem.*, **70**, 6956 (2005)
224. P.S.Shirude, V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *Tetrahedron Lett.*, **45**, 3085 (2004)
225. P.S.Shirude, V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *Tetrahedron*, **60**, 9485 (2004)
226. P.S.Lonkar, V.A.Kumar. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1105 (2003)
227. P.S.Lonkar, V.A.Kumar. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **14**, 2147 (2004)
228. E.Lescrinier, M.Froeyen, P.Herdewijn. *Nucleic Acids Res.*, **31**, 2975 (2003)
229. T.Govindaraju, R.G.Gonnade, M.M.Bhadbhade, V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *Org. Lett.*, **5**, 3013 (2003)
230. T.Govindaraju, V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *Chem. Commun.*, 860 (2004)
231. T.Govindaraju, V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *J. Org. Chem.*, **69**, 1858 (2004)
232. T.Govindaraju, V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *J. Am. Chem. Soc.*, **127**, 4144 (2005)
233. T.Govindaraju, V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *J. Org. Chem.*, **69**, 5725 (2004)
234. T.Govindaraju, V.Madhuri, V.A.Kumar, K.N.Ganesh. *J. Org. Chem.*, **71**, 14 (2006)
235. M.C.Myers, M.A.Witschi, N.V.Larionova, J.M.Franck, R.D.Haynes, T.Hara, A.Grajkowski, D.H.Appella. *Org. Lett.*, **5**, 2695 (2003)
236. J.K.Pokorski, M.A.Witschi, B.L.Purnell, D.H.Appella. *J. Am. Chem. Soc.*, **126**, 15067 (2004)
237. J.K.Pokorski, M.C.Myers, D.H.Appella. *Tetrahedron Lett.*, **46**, 915 (2005)
238. E.A.Englund, Q.Xu, M.A.Witschi, D.H.Appella. *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 16456 (2006)
239. J.K.Pokorski, J.-M.Nam, R.A.Vega, C.A.Mirkin, D.H.Appella. *Chem. Commun.*, 2101 (2005)
240. N.Zhang, D.H.Appella. *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 8424 (2007)
241. L.Kovács, M.Hornýák, N.M.Howarth. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acid*, **22**, 1363 (2003)
242. N.M.Howarth, L.P.G.Wakelin, D.M.Walker. *Nucleosides, Nucleotides Nucleic Acids*, **22**, 1352 (2003)
243. P.Herdewijn, P.Marlière. *Chem. Biodiv.*, **6**, 791 (2009)
244. D.H.Appella. *Curr. Opin. Chem. Biol.*, **13**, 687 (2009)
245. S.Sforza, G.Haaima, R.Marchelli, P.E.Nielsen. *Eur. J. Org. Chem.*, 197 (1999)
246. V.Menchise, G.De Simone, T.Tedeschi, R.Corradini, S.Sforza, R.Marchelli, D.Capasso, M.Saviano, C.Pedone. *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **100**, 12021 (2003)
247. T.Tedeschi, S.Sforza, A.Dossena, R.Corradini, R.Marchelli. *Chirality*, **17**, S196 (2005)
248. S.Sforza, R.Corradini, S.Ghirardi, A.Dossena, R.Marchelli. *Eur. J. Org. Chem.*, 2905 (2000)
249. R.Corradini, G.Feriotto, S.Sforza, R.Marchelli, R.Gambari. *J. Mol. Recognit.*, **17**, 76 (2004)
250. T.Tedeschi, M.Chiari, G.Galaverna, S.Sforza, M.Cretich, R.Corradini, R.Marchelli. *Electrophoresis*, **26**, 4310 (2005)
251. S.Sforza, T.Tedeschi, R.Corradini, D.Ciavardelli, A.Dossena, R.Marchelli. *Eur. J. Org. Chem.*, 1056 (2003)
252. T.Tedeschi, S.Sforza, R.Corradini, R.Marchelli. *Tetrahedron Lett.*, **46**, 8395 (2005)
253. S.Sforza, T.Tedeschi, R.Corradini, R.Marchelli. *Nucleic Acids Symp. Ser.*, **51**, 19 (2007)

254. T.Ishizuka, J.Yoshida, Y.Yamamoto, J.Sumaoka, T.Tedeschi, R.Corradini, S.Sforza, M.Komiyama. *Nucleic Acids Res.*, **36**, 1464 (2008)
255. T.Ishizuka, T.Tedeschi, R.Corradini, M.Komiyama, S.Sforza, R.Marchelli. *ChemBioChem*, **10**, 2607 (2009)
256. P.Zhou, M.Wang, L.Du, G.W.Fisher, A.Waggoner, D.H.Ly. *J. Am. Chem. Soc.*, **125**, 6878 (2003)
257. A.Dragulescu-Andrasi, P.Zhou, G.He, D.H.Ly. *Chem. Commun.*, 244 (2005)
258. P.Zhou, A.Dragulescu-Andrasi, B.Bhattacharya, H.O'Keefe, P.Vatta, J.J.Hyldig-Nielsen, D.H.Ly. *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **16**, 4931 (2006)
259. A.Dragulescu-Andrasi, S.Rapireddy, G.He, B.Bhattacharya, J.J.Hyldig-Nielsen, G.Zon, D.H.Ly. *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 16104 (2006)
260. A.Dragulescu-Andrasi, S.Rapireddy, B.M.Frezza, C.Gayathri, R.R.Gil, D.H.Ly. *J. Am. Chem. Soc.*, **128**, 10258 (2006)
261. S.Rapireddy, G.He, S.Roy, B.A.Armitage, D.H.Ly. *J. Am. Chem. Soc.*, **129**, 15596 (2007)
262. V.Chenna, S.Rapireddy, B.Sahu, C.Ausin, E.Pedroso, D.H.Ly. *ChemBioChem*, **9**, 2388 (2009)
263. G.He, S.Rapireddy, R.Bahal, B.Sahu, D.H.Ly. *J. Am. Chem. Soc.*, **131**, 12088 (2009)
264. B.Sahu, V.Chenna, K.L.Lathrop, S.M.Thomas, G.Zon, K.J.Livak, D.H.Ly. *J. Org. Chem.*, **74**, 1509 (2009)
265. E.A.Englund, D.H.Appella. *Org. Lett.*, **7**, 3465 (2005)
266. C.Dose, O.Seitz. *Org. Lett.*, **7**, 4365 (2005)
267. Пат. 5034506 США (1991)
268. Пат. 5185444 США (1993)
269. J.E.Summerton. *Lett. Pept. Sci.*, **10**, 215 (2003)
270. J.E.Summerton. *Curr. Top. Med. Chem.*, **7**, 651 (2007)
271. B.R.Bill, A.M.Petzold, K.J.Clark, L.A.Schimmenti, S.C.Ekker. *Zebrafish*, **6**, 69 (2009)
272. O.Chakhmakhcheva, M.Andrianov, A.Buryakova, M.Choob, V.Efimov. *Nucleosides Nucleotides*, **18**, 1427 (1999)
273. T.V.Abramova, M.F.Kassakin, A.A.Lomzov, D.V.Pyshnyi, V.N.Silnikov. *Bioorg. Chem.*, **35**, 258 (2007)
274. T.V.Abramova, M.F.Kassakin, V.N.Silnikov. *Indian J. Chem., Sect. B*, **48**, 1721 (2009)
275. N.Zhang, C.Tan, P.Cai, Y.Jiang, P.Zhang, Y.Zhao. *Tetrahedron Lett.*, **49**, 3570 (2008)
276. N.Zhang, C.Tan, P.Cai, P.Zhang, Y.Zhao, Y.Jiang. *Bioorg. Med. Chem.*, **17**, 2441 (2009)
277. S.Pérez-Rentero, J.Alguacil, J.Robles. *Tetrahedron*, **65**, 1171 (2009)
278. D.L.Swenson, K.L.Warfield, T.K.Warren, C.Lovejoy, J.N.Hassinger, G.Ruthel, R.E.Blouch, H.M.Moulton, D.D.Weller, P.L.Iversen, S.Bavari. *Antimicrob. Agents Chemother.*, **53**, 2089 (2009)
279. B.L.Mellbye, D.D.Weller, J.N.Hassinger, M.D.Reeves, C.E.Lovejoy, P.L.Iversen, B.L.Geller. *J. Antimicrob. Chemother.*, **65**, 98 (2010)
280. J.D.Moulton, S.Jiang. *Molecules*, **14**, 1304 (2009)
281. P.Sazani, S.-H.Kang, M.A.Maier, C.Wei, J.Dillman, J.Summerton, M.Manoharan, R.Kole. *Nucleic Acids Res.*, **29**, 3965 (2001)
282. J.B.Bramsen, M.B.Laursen, A.F.Nielsen, T.B.Hansen, C.Bus, N.Langkjær, B.R.Babu, T.Højland, M.Abramov, A.Van Aerschot, D.Odadzic, R.Smicus, J.Haas, C.Andree, J.Barman, M.Wenska, P.Srivastava, C.Zhou, D.Honcharenko, S.Hess, E.Müller, G.V.Bobkov, S.N.Mikhailov, E.Fava, T.F.Meyer, J.Chattopadhyaya, M.Zerial, J.W.Engels, P.Herdewijn, J.Wengel, J.Kjems. *Nucleic Acids Res.*, **37**, 2867 (2009)

SYNTHESIS AND PROPERTIES OF CARBOHYDRATE-PHOSPHATE BACKBONE-MODIFIED OLIGONUCLEOTIDE ANALOGUES AND NUCLEIC ACID MIMETICS

T.V.Abramova, V.N.Silnikov

Institute of Chemical Biology and Fundamental Medicine

Siberian Branch of the Russian Academy of Sciences

8, Prosp. Akad. Lavrentieva, 630090 Novosibirsk, Russian Federation, Fax +7(383)363–5182

The achievements in the synthesis of oligo(deoxy)ribonucleotide analogues and nucleic acid mimetics made in the last decade are considered. The attention is focused on new methods of the preparation of derivatives with modified ribose phosphate backbone (phosphorothioate, boranophosphate, nucleoside phosphonate) and derivatives devoid of the phosphate group. Among nucleic acid mimetics, conformationally restricted modified peptido-nucleic acids, in particular those bearing a negative or positive charge, and morpholine oligomers are considered. The advantages and drawbacks of the main types of analogues as regards the difficulty of synthesis and the possibility of application as antisense agents or reagents for hybridization analysis are compared.

Bibliography — 282 references.

Received 10th October 2010