

Нуклеозиди з трициклічним агліконом. Рибонуклеозиди конденсованого 1,2,4-триазину — синтез і протигерпетична активність

І. В. Алексєєва, Л. Г. Пальчиковська, С. Л. Рибалко¹, Л. С. Усенко,
А. С. Кобко, Л. А. Попова¹, С. Т. Дядюн¹, А. Д. Швед

Інститут молекулярної біології і генетики НАН України
Вул. Академіка Заболотного, 150, Київ, 03143, Україна

¹ Інститут епідеміології та інфекційних хвороб ім. Л. В. Громашевського АМН України
Вул. Амосова, 4, Київ, 03038, Україна

L.Palchykovska@imbg.org.ua

Розроблено метод синтезу трициклічних агліконів на основі конденсованого 1,2,4-триазину та здійснено їхнє рибозилування спрощеним методом силільної конденсації. Індивідуальність і будову отриманих сполук підтверджено методами хроматографії, УФ-, ПМР- і мас-спектроскопії. Високий таутомерний статус 3-оксо(3-тіоксо)-триазинобензотіазину (основи I, II) сприяє утворенню двох регіоізомерних нуклеозидів конденсованого триазину. Введення алкілмеркаптозамісника у положення 3 триазинового фрагмента молекули аглікону закріплює таутомерну форму з протоном у тіазиновому циклі, що дозволяє досягнути регіоспецифічності процесу. Дослідження токсичності та протигерпетичної активності синтезованих сполук (основ і нуклеозидів) у культурі клітин RK-13 показало, що найменш токсичним і найефективнішим стосовно вірусу герпесу 2-го типу виявився 3-оксотриазинобензотіазин (базова основа). Його противірусні характеристики (індекс селективності та ефективна доза) є навіть кращими за такі ж для препарату порівняння ацикловіру (віролексу).

Ключові слова: аномальні нуклеозиди, трициклічні аглікони, вірус герпесу типу 2 (ВПГ-2), антивірусні агенти.

Вступ. Терапія багатьох інфекційних захворювань, у тому числі й вірусних, невідворотно стикається з проблемою виникнення резистентності до лікарських засобів, тому єдиним вирішенням цієї проблеми є пошук нових противірусних препаратів, які б обминали або мінімізували ймовірність розвитку стійкості до них [1].

Найбагатшим джерелом базових структур для створення нових препаратів є природні антибіотики

та інші вторинні метаболіти, дизайн і модифікація яких дозволяють отримувати високоактивні сполуки з противірусною, протипухлинною та антимікробною дією.

Поліциклічні гетерооснови, які входять до складу багатьох антибіотиків, — акридини, феназини, фенотіазини, алоксазини — мають планарну, переважно ароматичну структуру, здатну стабілізувати ДНК і РНК дуплекси завдяки або їхнім інтеркаляційним властивостям, або власній комплементарності до нуклеїнових основ [2–6]. Зокрема, фенотіазинові, алоксазинові, бензімідазопіримі-

© І. В. АЛЕКСЄЄВА, Л. Г. ПАЛЬЧИКОВСЬКА,
С. Л. РИБАЛКО, Л. С. УСЕНКО, А. С. КОБКО,
Л. А. ПОПОВА, С. Т. ДЯДЮН, А. Д. ШВЕД, 2006

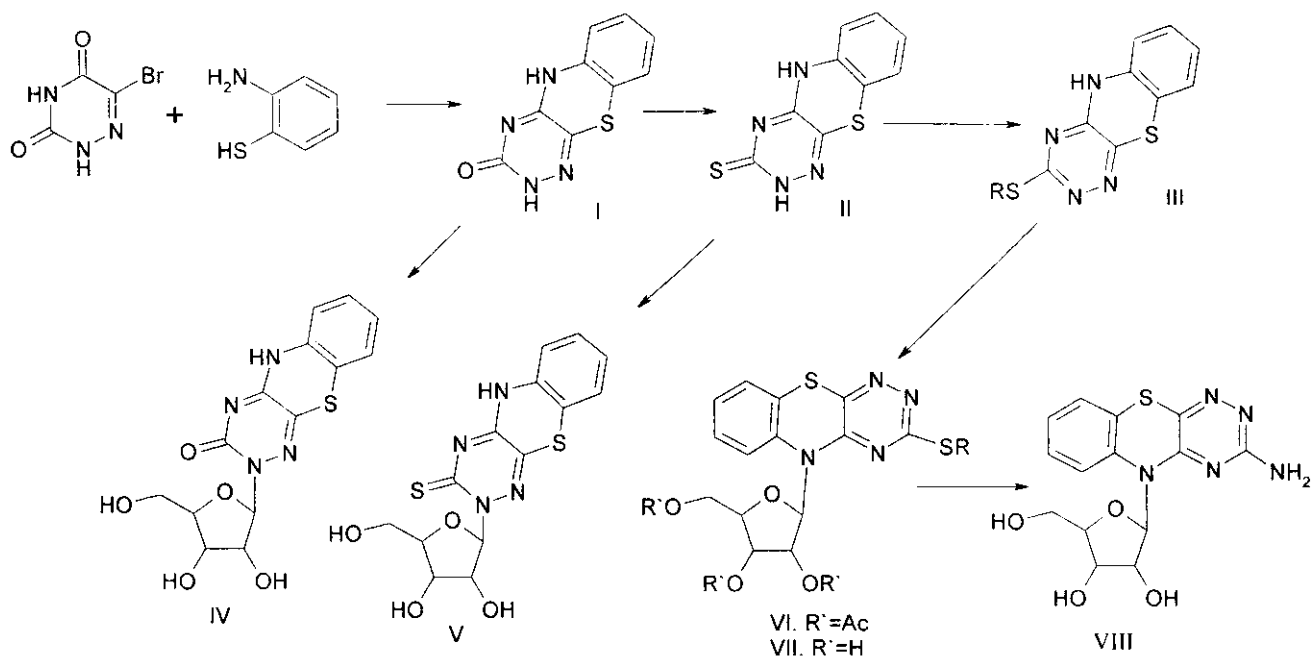


Схема синтезу похідних триазинобензотіазинів (I—III) та їхніх нуклеозидів (IV—VIII)

динові нуклеозиди або нуклеотиди використовують як модифікатори антисенс-олігонуклеотидів при сиквенс-специфічній регуляції генної експресії (антисенс підхід) [3]. Саме присутність у їхніх структурах піримідинового гетероциклу обумовлює здатність до утворення комплементарних пар з основами ДНК або РНК, а їхні планарні трициклічні структури через інтеркаляцію та стекінг-взаємодії між утвореними парами ланцюга стабілізують дуплекси мРНК—антисенс-олігонуклеотид [4—6].

Мета цієї роботи з огляду на властивості вивчених поліциклічних гетерооснов полягає в заміні піримідинового фрагмента їхньої структури на біоізостерний-триазиновий і випробуванні нових трициклічних агліконів та їхніх нуклеозидів як самостійних біологічно активних речовин з потенційними противірусними властивостями.

Матеріали і методи. Вихідні сполуки для синтезу похідних конденсованого триазину — 1,2,4-триазин-3,5(2Н, 4Н)-діон і 6-бром-1,2,4-триазин-3,5(2Н, 4Н)-діон — отримано за описаними методиками [7, 8], тетраацетилрибозу — гідролізом ацильованого гуанозину згідно з [9].

Алкилувальні агенти синтезовано амідуванням хлорангідриду монохлороцтової кислоти відповідним аміном. У роботі також використано реагенти фірми «Fluka» (Швейцарія) та розчинники фірми «УкрОргСинтез» (Україна).

Перебіг реакцій та чистоту отриманих сполук контролювали методом тонкошарової хроматографії (ТШХ) на платівках фірми «Merck» (Німеччина) у системі розчинників хлороформ:метанол (9:1) (А) або гексан:етилацетат (1:1) (Б), для препаративної хроматографії використано систему *ізо*-пропанол:толуол:аміак (3:2:1) і градієнт концентрації метанолу в хлороформі.

Спектри ^1H ЯМР записано на спектрометрі «Oxford»-400 МГц (Велика Британія) для сполук I—III у $\text{CCl}_4 + \text{DMCO} - d_6$, для нуклеозидів IV—VIII у DMCO . УФ-спектри поглинання розчинів нових сполук записували на спектрофотометрі Sperecord M-40 («Karl Zeiss Jena», Німеччина).

Температуру плавлення визначали на приладі Боетіуса.

Хімічний синтез. Одержання похідних конденсованого триазину

Таблиця 1
Фізико-хімічні характеристики трициклічних основ та їхніх нуклеозидів

Сполука	Вихід, %	Ттопл., °С	УФС, δ, ммк (етанол)		¹ H-ЯМР спектр, хім. зсув, δ, м. ч.		
			λ _{max} (рН 7)	λ _{max} (рН 10)	NH (цикл)	NH (екзо)	C1'-H
I	90	>300	240, 386	Нд	12,26, с., (1H); 11,13, с., (1H)	—	—
II	92	296—299	240, 298, 390	Нд	13,45, с., (1H); 11,53, с., (1H)	—	—
III	80	>300	255, 393	258, 399	10,7, с., (1H)	9,8**, с., (1H)	—
IV	49	236—239	240, 265*, 295*, 400	246, 385, 405*	11,38, с., (1H)	—	5,85, д., (1H)
V	53	240—242	240, 269*, 296, 391	247, 284, 391	11,84, с., (1H)	—	6,85, д., (1H)
VI	48	180—183	252, 383	251, 382	—	9,88**, с., (1H)	5,75, д., (1H)
VII	16	224—226	252, 383, 403*	251, 383, 400*	—	7,19, уш. с., (1H)	5,45, д., (1H)
VIII	21	214—218	252, 383, 400*	252, 382, 400*	—	6,98**, с., (2H)	5,46, д., (1H)

П р и м і т к а. УФ-спектри нуклеозидів IV—VII знято в H₂O; *плече на смузї поглинання; **показник для амідного протона; с — синглет; д — дублет; уш. с. — уширений синглет.

(рисунок, сполуки I—III). До розчину 0,10 моль 6-бромтриазину у 50 мл етанолу додавали 10 мл піридину і 0,10 моль 2-амінобензтіолу, суміш підігрівали протягом 1 год, контролюючи процес методом ТШХ. Після закінчення реакції і охолодження реактора до суміші додавали дистильовану воду (100 мл), видаляли осад та ретельно промивали на фільтрі етанолом.

Тіонування. Сполуку I (0,1 моль) кип'ятили в сухому піридині з 0,2 моль пентасульфїду фосфору аналогічно до описаних методик [10], продукт реакції (сполука II) очищували перекристалізацією з суміші етанол—ДМФА.

Алкілування тіопохідного II (0,01 моль) здійснювали у диметилформаміді (ДМФА, 5 мл) відповідним хлорацетамідом (0,011 моль) за присутності триетиламіну (0,011 моль). Реакційну суміш витримували при кімнатній температурі впродовж 24 год, очікуваний продукт (сполуки IIIa,б) осаджували водою (10 мл) і кристалізували з суміші розчинників.

Чистоту синтезованих основ визначали за допомогою ТШХ та ПМР спектрів. Фізико-хімічні характеристики наведено у табл. 1.

Синтез N-рибофуранозидів 1,2,4-триазино[5,6-е][1,4]-бензотіазин-3(2H)-ону (IV) та 1,2,4-триазино[5,6-е][1,4]-бензотіазин-3(2H)-тіону (V). Трициклічні основи I і II глікозилювали спрощеним методом силільної конденсації, як описано у нашій попередній публікації [11]. Після стандарт-

ної обробки суміші ацилнуклеозиди виділяли у вигляді маслоподібного залишку, витримували їх протягом 20 год у спиртово-водному розчині аміаку для гідролізу захисних груп, очищували на колонці з силікагелем і кристалізували із спирту. Вихід очікуваного продукту складав близько 50 %. Фізико-хімічні дані синтезованих у такий спосіб нуклеозидів представлено у табл. 1.

Глікозилювання трициклічної основи III проводили аналогічно, деацильовання нуклеозиду VI концентрованим розчином аміаку супроводжується заміщенням SR-замісника аглікону на аміногрупу з утворенням нуклеозидів VII і VIII.

Визначення протигерпетичної активності синтезованих сполук. У роботі використано еталонний штам вірусу герпесу, тип 2 (ВПГ-2) штам ВН, одержаний з музею вірусів Інституту вірусології АМН РФ. Вірус підтримували серійними пасажами в культурі клітин RK-13 (перещеплювані культури клітин нирки кроля, одержані з колекції музею клітин CDC (Атланта, США). Інфекційний титр по ЦПД у культурі клітин складав 5,0—5,5 Іг ТЦД₅₀/0,1 мл.

За цитотоксичну дозу (CD₅₀) препарату приймали його найбільшу концентрацію, яка викликала дегенерацію 50 % моношару клітин [12].

Противірусну активність сполук визначали за зміною інфекційного титру вірусу в досліді порівняно з контролем і виражали у різниці Іг інфекційних титрів ID₅₀ [13]. Ефективною дозою

(ED₅₀) вважали ту, за якої сполука зменшувала інфекційний титр ВПГ не менш ніж на 1,7 lg ID₅₀ [12].

Хіміотерапевтичний індекс, або індекс селективності (IS), визначали шляхом встановлення співвідношення CD₅₀ до мінімально активної концентрації ED₅₀ [12].

Результати і обговорення. Як найприйнятнішу вихідну сполуку для отримання конденсованої триазинової системи обрано 1,2,4-триазин-3,5(2Н,4Н)-діон (6-азаурацил). Його напрацювання здійснено за удосконаленою нами раніш препаративною методикою (Регламент). Бромовання 6-азаурацилу (Br/H₂O) перетворює його у високореакційну сполуку для конденсації з другою складовою — *орто*-амінотіофенолом, який широко використовують при гетероциклізації феноліазинових і феноксазинових аналогів рибофлавіну та інших трициклічних гетероциклів [14].

Схему синтезу нових гетероциклічних основ та їхніх глікозидів представлено на рисунку.

Стереоспецифічне глікозилювання трициклічних агліконів (I—III) тетраацетилрибофуранозою проводили спрощеним силільним методом за присутності каталізатора — тетрахлориду олова [11, 15].

Контроль за перебігом реакції (ТШХ-моніторинг) виявив для основ I і II (3-оксо- та 3-тіоксо-триазинобензотіазинів відповідно) утворення двох продуктів глікозилювання, які значно відрізнялися за хроматографічною рухливістю (R_f). Однак після деблокування суміші ацильованих нуклеозидів розчином аміаку на контрольній хроматограмі зафіксовано лише один із продуктів реакції. Вочевидь, використані умови деацильовання (лужне середовище) витримує лише мажорний, тобто стабільніший регіоізомер.

Глікозилювання основ IIIа, б (алкілмеркаптопохідні основи II) спрощеним методом супроводжувалося суттєвими ускладненнями через труднощі силіювання гетероциклічних основ по атому азоту [15]. У разі аглікону IIIа це проявилось в тому, що його більшу частину було виділено з реакційної суміші у незміненому стані і, як наслідок, отримано з низьким виходом продукт конденсації — ацильований нуклеозид (VI). Що стосується основи IIIб, то агресивне середовище та тривале нагрівання реакційної суміші призвело до повного руйнування продуктів синтезу.

Подальше деблокування рибозиду VI у конт-

рольованих умовах відбувалося з частковим заміщенням SR-групи в положенні 3 аглікону на аміногрупу. Вільні нуклеозиди VII і VIII розділяли і очищували препаративною хроматографією на силікагелі.

Положення глікозидного залишку в синтезованих сполуках встановлено за допомогою даних УФ та ПМР спектрів, зіставлення їх зі спектральними характеристиками споріднених сполук і за результатами хромато-мас-спектрального дослідження.

Застосування спрощеного варіанта силільної конденсації передбачає одержання N2-рибозидів триазинових основ з β-конфігурацією глікозидного зв'язку [11, 15]. Аналізуючи спектральні дані, ми виявили, що закономірності, які прослідковуються у ПМР спектрах нуклеозидів IV і V (табл. 1), аналогічні таким, що спостерігалися раніше у спектрах глікозидних похідних 3-оксо- та 3-тіоксо-заміщених триазину [11]. Зокрема, це стосується, насамперед, положення аномерного протона, яке через магнітну анізотропію карбонільної групи *орто*-замісника суттєво зміщене відносно інших протонів глікозидного залишку у слабке поле (табл. 1).

I, навпаки, у ізомерних до них нуклеозидів VII і VIII нами відмічено зсув резонансного сигналу C1'-H у сильнополярну область (Δδ > 0,4 м. ч. відносно сполук IV і V), що підтверджує відсутність впливу дезекранувальної дії *орто*-замісника. Тому ми вважаємо імовірним утворення саме N5-ізомеру (рисунок). Невеликі значення констант спин-спінової взаємодії (J_{1', 2'}, близько 3—4 Гц) для синтезованих нуклеозидів дозволяють віднести їх до рибозидів з β-конфігурацією глікозидного зв'язку [18].

На користь утворення саме N2- та N5- нуклеозидів свідчать характер і значення змін електронних спектрів поглинання, які виявилися подібними до таких для близьких за структурою N2- та N8-глікозидів протипухлинного антибіотика реуміцину (geimycin), структура молекули якого відповідає такій конденсованого триазину [19].

Остаточну будову нуклеозиду IV доведено «зустрічним синтезом», тобто отриманням ідентичної за структурою сполуки реакцією N2-рибозиду 6-бром-триазин-3(2Н)-ону з амінотіофенолом (результати буде подано як самостійне дослідження).

Хромато-мас-спектрометричне вивчення глікозидів IV—VIII підтвердило індивідуальність сполук: одержано мас-спектри з піками (різними за інтенсивністю) молекулярних іонів (M⁺ 350, 366, 693,

Таблиця 2

Показники CD_{50} , ED_{50} та IS тестування синтезованих сполук на клітинній моделі герпетичної інфекції* (ВПГ-2)

Сполуки	Цитотоксична доза, CD_{50} , мкг/мл	Ефективна доза, ED_{50} , мкг/мл	Індекс селективності, IS
Основа I	>500	1,5	333,0
Основа II	>500	12,5	40,0
Основа III	< 12,5	Нд	Нв
Нуклеозид IV	15,5	1,5	10,3
Віролекс	>1000	5,0	200,0

Примітка. Нд — не досліджували; Нв — не визначено.

567, 349 відповідно). Для сполук VI і VII спостерігалася складна схема фрагментація молекул, що відповідає багатьом напрямкам їхнього розпаду.

Серед представників родини *Herpesviridae* вірус простого герпесу 2-го типу, що є збудником генітального герпесу, часто виявляється у ВІЛ-інфікованих та онкохворих як асоційована інфекція. Відомо також, що інтеграція вірусної ДНК у геном хазяїна зумовлює появу латентної форми герпетичної інфекції, на тлі якої може відбуватися злаякісна трансформація клітин, найчастіше статевої сфери.

Препаратами для системної терапії герпетичної інфекції є ациклічні аналоги гуанозину — ацикловір, ганцикловір, фамцикловір, пемцикловір, валцикловір, механізм дії яких однаковий і полягає в тому, що фосфорильовані ациклоаналого гуанозину включаються в 3'-кінець новоутвореного ланцюга ДНК і в такий спосіб термінують подальшу його елонгацію.

Внаслідок тривалого курсу лікування досить часто виникає резистентність до цих препаратів, тому вкрай необхідним і доцільним є пошук ефективних агентів з іншим механізмом дії.

Враховуючи вищевикладене, нами було синтезовано гетерооснови, які можна розглядати як трициклічні аналоги азацитозину, що, ймовірно, здатні, подібно до ізоалоксазинових основ флавінів, утворювати комплементарні пари з нуклеотидними основами і одночасно інтеркалювати в ДНК.

Інгібіторні активності трициклічних основ (I, II, III) і нуклеозиду (IV) оцінювали, порівнюючи з активністю реперної сполуки — лікарського препарату віролексу. Результати, наведені в табл. 2, засвідчують, що є значна різниця у прояві інгібіторної дії між оксоосною (I), її рибозидом (IV), а також меркаптопохідним (IIIа, б).

Мінімальна активна концентрація для вихідної основи I та її нуклеозиду IV однакова і досить низька, проте цитотоксичність нуклеозиду виявилася більш ніж на порядок вищою за таку ж для його основи.

На сьогодні це є несподіваним результатом для сполук триазинового ряду. Всупереч тому, що було продемонстровано у наших попередніх публікаціях ([11] та наведені у ній посилання), у тому числі і при дослідженні нуклеозидів конденсованого триазину [21], трициклічні основи виявилися менш токсичними для культури клітин RK-13, ніж глікозид. Це може бути пов'язано, вірогідно, з його інтеркаляційними особливостями, набутими завдяки наявності цукрового кільця з трьома гідроксильними групами у поєднанні з іншими факторами.

У попередніх дослідженнях на молекулярних моделях ферментативних комплексів топоізомерази I та ДНК-залежної РНК-полімерази T7 (дані будуть представлені в окремій публікації) було визначено, що нуклеозидна молекула розташована між парами нуклеотидних основ і закріплена Н-зв'язками гідроксилів цукрового фрагмента та екзоциклічних груп трициклічної основи через взаємодію з амінокислотним оточенням у порожнині ферментативної мішені, жорстко фіксуючи непродуктивний комплекс ДНК—інгібітор—фермент.

Тому можна припустити, що саме у такий спосіб нуклеозид IV пригнічує репродукцію вірусу ВПГ-2. І цілком вірогідно, що за таким механізмом він здатний впливати і на рівень синтезу клітинної ДНК неінфікованої культури RK-13, спричинюючи токсичну дію.

Таким чином, синтезовані трициклічні основи та їхні нуклеозиди виявилися перспективними базовими структурами для подальшого удосконалення їхніх противірусних властивостей.

Висновки. Вперше спрощеним методом силільної конденсації одержано N2- та N5-нуклеозиди — біоізостери алоксазинових глікозидів, трицикличну гетерооснову яких отримано реакцією гетероциклізації 5-бром-6-азаурацилу з відповідним тіофенолом. З'ясовано, що високий таутомерний статус 3-оксо- (3-тіоксо)-триазинобензотіазинових основ сприяє утворенню двох регіоізомерних нуклеозидів, тоді як введення алкілмеркапто-замісника в положення 3 триазинового фрагмента молекули фіксує таутомерну форму з протоном у тіазиновому циклі, що дозволяє досягти регіоспецифічності процесу глікозилювання.

Дослідження антигерпетичної дії синтезованих нами сполук виявило, що перспективним інгібітором ВПГ-2 (збудника генітального герпесу) є 3-оксо-триазинобензотіазин, індекс селективності якого у 1,5 разу перевищує ІS сполуки порівняння — ацикловіру (віролексу).

I. V. Alexeeva, L. G. Palchikovskaya, S. L. Rybalko, L. S. Usenko, A. S. Kobko, L. A. Popova, S. T. Dyadun, A. D. Shved

Nucleosides with tricyclic aglycone. The ribonucleosides of condensed 1,2,4-triazine: synthesis and its antiherpetic activity

Summary

The method of synthesis of tricyclic aglicones based on the condensed 1,2,4-triazine has been developed to perform their ribosylation by the simplified procedure (technique) of silylic condensation. The identity and structure of the resultant compounds were ascertained through chromatography, UV, PMR, and mass-spectrometry. High tautomeric status of 3-oxo-(3-thioxo)-triazine-benzothiazines (I and II bases) may promote formation of two regioisomeric nucleosides. The introduction of alkylmercapto-substituent into position 3 of triazine fragment of aglicone molecule stabilizes tautomeric form with proton in thiazine cycle, thus it allows achieving the regioselectivity of the process. Research on the toxicity and antiherpetic activity of the synthesized compounds (bases and nucleosides) was carried out in RK-13 tissue culture. It was demonstrated that 3-oxo-triazinebenzothiazine (base I) proved to be the least toxic and the most effective with respect to herpes virus (HSV-2), the selectivity index of which exceeded that of acyclovir (Virolex) significantly.

Keywords: abnormal nucleosides, tricyclic aglicones, herpes virus of the 2nd type (HSV-2), antiviral agents.

И. В. Алексеева, Л. И. Пальчиковская, С. Л. Рыбалко, А. С. Кобко, Л. С. Усенко, Л. А. Попова, С. Т. Дядюн, А. Д. Швед

Нуклеозиды с трициклическим агликоном.

Рибонуклеозиды конденсированного 1,2,4-триазина — синтез и противогерпетическая активность

Резюме

Разработан метод синтеза трициклических агликонов на ос-

нове конденсированного 1,2,4-триазина и осуществлено их рибозилирование упрощенным методом силильной конденсации. Индивидуальность и строение полученных соединений подтверждены методами хроматографии, УФ-, ПМР- и масс-спектрологии. Высокий таутомерный статус 3-оксо(3-тиоксо)-триазинобензотиазинов (основания I и II) способствует образованию двух региоизомерных нуклеозидов. Введение алкилмеркаптозаместителя в положение 3 триазинового фрагмента молекулы агликона закрепляет таутомерную форму с протоном в тиазиновом цикле, что позволяет достичь региоспецифичности процесса. В результате исследования токсичности и противогерпетической активности синтезированных соединений (оснований и нуклеозидов) в культуре ткани RK-13 выявлено, что наименее токсичным и наиболее эффективным в отношении вируса герпеса был 3-оксо-триазинобензотиазин (основание I). Его противовирусные характеристики (индекс селективности и эффективная доза) значительно превышают показателя ацикловира (виролекса).

Ключевые слова: аномальные нуклеозиды, трициклические агликоны, вирус герпеса типа 2 (ВПГ-2), противовирусные агенты.

ПЕРЕЛІК ЛІТЕРАТУРИ

1. Yin P. D., Das D., Mitsuya H. Overcoming HIV drug resistance through rational drug design based on molecular, biochemical, and structural profiles of HIV resistance // Cell. Mol. Life Sci.—2006.—63.—P. 1706—1724.
2. Korth C., May B. C. H., Cohen F. E., Prusiner S. B. Acridine and phenothiazine derivatives as pharmacotherapeutics for prion disease // Proc. Nat. Acad. Sci.—2001.—98.—P. 9836—9841.
3. Lin R.-Y., Jones R. J., Mateucci M. Tricyclic 2'-deoxycytidine analogs: syntheses and incorporation into oligodeoxynucleotides which have enhanced binding to complementary RNA // J. Amer. Chem. Soc.—1995.—117.—P. 3873—3874.
4. Зозуля В. М., Благой Ю. П., Дубей І. Я., Федоряк О. Д., Щербакова А. С., Федоряк Д. М. Стабілізація дуплексних та триплексних комплексів оліготимідилату ковалентно приєднаним глікозидом імідазофенанзину // Біополімери і клітина.—1998.—14, № 1.—С. 54—61.
5. Thuong N. T., Helene C. Sequence-specific recognition and modification of double-helical DNA by oligonucleotides // Angew. Chem.—1993.—32.—P. 666—690.
6. Sandin P., Wilhelmson L. M., Lincoln P., Powers V. E. C., Brown T., Albinsson B. Fluorescent properties of DNA base analogue tC upon incorporation into DNA-negligible influence of neighbouring bases on fluorescence quantum yield // Nucl. Acids Res.—2005.—33.—P. 5019—5025.
7. Bobek M., Farkas J., Gut J. An improved synthesis of 6-azauracil and its 5-substituted derivatives // Collect. Czech. Chem. Comm.—1967.—32.—P. 1295—1298.
8. Chang P. K. New 5-substituted 6-azauracils // J. Org. Chem.—1961.—26.—P. 1118—1120.
9. Методы исследования углеводов / Под ред. А. Я. Хорлина.—М.: Мир, 1975.—445 с.
10. Cristescu C., Badea V. Azauracil derivatives with potential cytostatic activity. VII. Thionation of 5-benzylthio-6-azauracil // Rev. Roum. Chim.—1969.—14.—P. 135—140.
11. Алексеева І. В., Пальчиковська Л. Г., Носач Л. Н., Усенко Л. С., Жовновата В. Л., Дяченко Н. С. Глікозидні аналоги 6-азацитидину: синтез і протиаденовірусна активність // Біополімери і клітина.—2004.—20, № 5.—С. 435—439.
12. Barquero A. A., Alche L. E., Coto C. E. Antiviral activity of

- meliacine on the replication of a thymidine kinase-deficient mutant of Herpes Simplex type 1 alone and in combination with acyclovir // *Antimicrob. Agents.*—1997.—9.—P. 49—55.
13. Доклінічні дослідження лікарських засобів. Методичні рекомендації.—Київ, 2001.—С. 371—396.
 14. Roth B., Schloemer L. A. 5-arylthiopyrimidines. III. cyclization of 4-hydroxy derivatives to 10H-pyrimido[5,4-b][1,4]benzothiazines (1,3-diazaphenothiazines) // *J. Org. Chem.*—1963.—28.—P. 2659—2672.
 15. Лукевиц Э. Я., Заблоцкая А. Е. / Силовый метод синтеза нуклеозидов.—Рига: Зинатне, 1985.—440 с.
 16. Ienaga K., Pfeleiderer W. Synthese und Eigenschaften von Alloxazin-nucleosiden // *Chem. Ber.*—1977.—110.—С. 3449—3455.
 17. Wang Z., Rizzo C. J. Regioselective synthesis of beta-N1- and beta-N3-alloxazine nucleosides // *Org. Lett.*—2000.—2—P. 227—230.
 18. Горюнова О. В., Корбук И. А., Преображенская М. Н., Чернышев А. М. Нуклеозиды 5-метилмеркапто-6Н-пирозоло-(4,3-d)пиримидинона-7 // *Биоорг. химия.*—1979.—5, № 9.—С. 1361—1368.
 19. Мельник С. Я., Бахмедова А. А., Володин Ю. Ю., Преображенская М. Н., Чернышев А. И., Есипов С. Е., Навашин С. М. Синтез гликозидных производных реумидина // *Биоорг. химия.*—1981.—7, № 11.—С. 1723—1730.
 20. Bretner M., Baier A., Kopanska K., Najda A., Schof A., Reinholz M., Lipniacki A., Piasek A., Kulikowski T., Borowski P. Synthesis and biological activity of 1H-benzotriazole and 1H-benzimidazole analogues — inhibitors of the NTPase/helicase of HCV and of some related Flaviviridae // *Anvir. Chem. Chemother.*—2005.—16.—P. 315—326.
 21. Zagorodnya S., Nesterova N., Alexeeva I., Palchikovskaya L., Baranova G., Kobko A., Golovan A. Studying of anti Epstein-Barr virus activity of new triazine bearing tricyclic bases and their N-glycosidic derivatives // *Abstrs of 19-th Int. Conf. on Antiviral Research (San Juan, Puerto Rico, May 7—11, 2006).*—San Juan, 2006.—P. A69—A70.

УДК 547.93.32:543.422:615.28
Надійшла до редакції 30.08.06