

# Методы синтеза и технология производства лекарственных средств

© Коллектив авторов, 2006

О. А. Тучная, С. Н. Елизарова, С. А. Шарикова, Н. С. Шастина,  
А. Е. Степанов, А. М. Юркевич, В. И. Швец

## СИНТЕЗ КОНЪЮГАТОВ АНТИ-ВИЧ-АКТИВНЫХ НУКЛЕОЗИДОВ С ЛИПОФИЛЬНЫМИ ДИОЛЬНЫМИ СОЕДИНЕНИЯМИ

Московская Государственная Академия Тонкой Химической Технологии имени М. В. Ломоносова

Описан синтез липофильных производных анти-ВИЧ-активных нуклеозидов с диольными соединениями, в которых два остатка антивирусного “фармакофора” связаны одним гидрофобным спейсером. В качестве гидрофобных транспортных систем предложены молекулы 2,3,4,5-тетра-О-бензил-D,L-идита и 1,12-додекандиола. Используются сукцинильный и фосфодиэфирный фрагменты для соединения молекулярных фрагментов при синтезе целевых конъюгатов.

Высокая изменчивость вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) приводит к быстрому появлению устойчивых к лекарствам штаммов и делает их малоэффективными. Поэтому постоянно проводится широкий скрининг различных соединений с целью поиска новых эффективных противовирусных лекарственных агентов.

Обратная транскриптаза ВИЧ является одной из основных мишеней для предотвращения размножения вируса, и нуклеозидные ингибиторы данного фермента широко применяются в химиотерапии СПИДа [1 – 5]. Являясь высокоактивными антиретровирусными агентами, неприродные нуклеозиды весьма токсичны и плохо преодолевают клеточные мембраны за счет своей гидрофильной природы. В результате требуется увеличение доз применяемых препаратов, что приводит к их накоплению в клетках крови, лимфатической системы и костной ткани, а также к развитию повышенной чувствительности и резистентности вируса к данным лекарствам [3, 5 – 11].

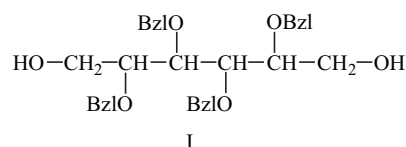
Превращение фармакологически активных неприродных нуклеозидов в их липофильные производные, транспортной системой в структуре которых выступают различные по своей структуре гидрофобные соединения, позволяет успешно преодолевать недостатки этих нуклеозидов и улучшать их свойства [5, 7, 12 – 22].

Показано также, что антивирусная эффективность ингибитора зависит не только от способности лекарственного препарата ингибировать действие фермента, но также от концентрации активного вещества внутри клетки-мишени [23]. Поэтому при использовании полигидроксильных соединений в качестве гидрофобных молекулярных транспортных систем для доставки нескольких остатков антивирусных нуклеозидов в инфицированные клетки возможно ожидать увеличение внутриклеточной концентрации и антивирусной эффективности активного фармакофора за счет улучше-

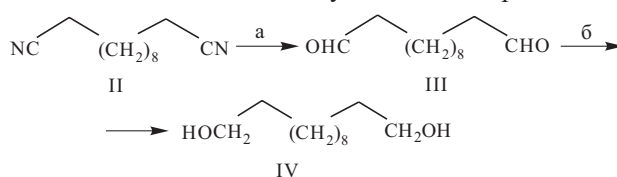
ния транспортных свойств вследствие структурной аффинности липофильного компонента к липидному матриксу клеточных мембран, а следовательно, и снижение токсичности.

В настоящей работе мы сообщаем о синтезе новых нуклеозидных конъюгатов, в которых два остатка анти-ВИЧ-активного нуклеозида связаны одним гидрофобным фрагментом.

Для направленного синтеза пролекарственных соединений, содержащих несколько остатков антивирусных нуклеозидов, необходимо наличие удобных полиольных синтонов, свободные гидроксильные группы которых открыты для последующего связывания с нуклеозидом. В качестве таких гидрофобных матриц нами были предложены  $\alpha,\omega$ -диольные соединения. Исходя из доступного тетразамещенного производного мио-инозита, по ранее описанному методу [24] нами был синтезирован 2,3,4,5-тетра-О-бензил-D,L-идит (I).



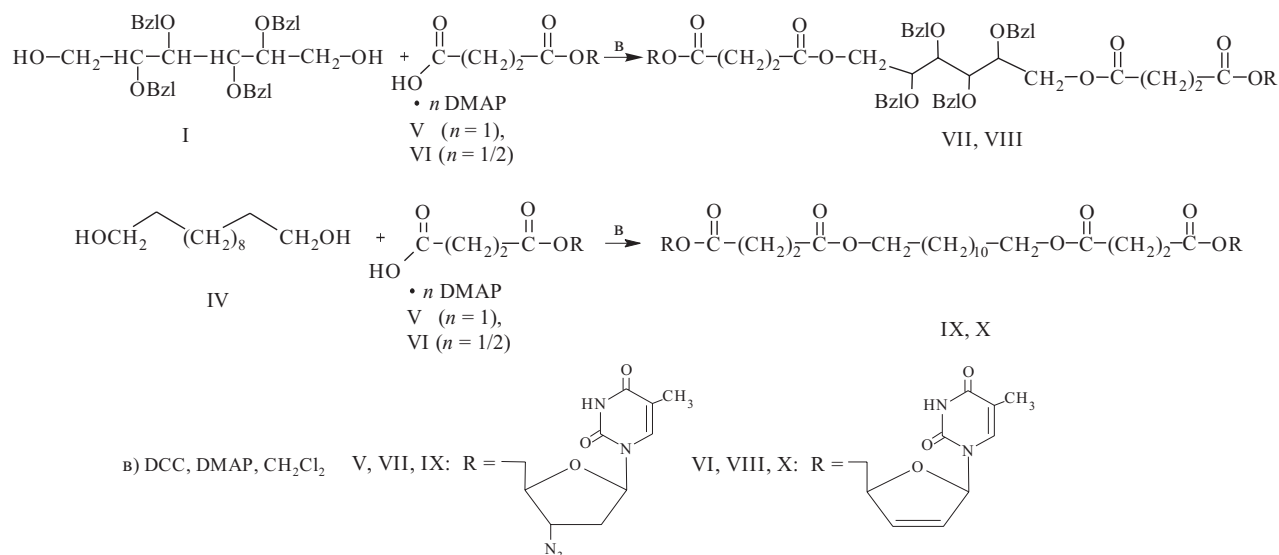
Для другого варианта модификации неприродных нуклеозидов мы предложили алифатический диол IV, который был получен в две стадии последовательным восстановлением соответствующего динитрила II.



а) 1,5М раствор  $\text{DibAl-H}$  в гептане

б)  $\text{NaBH}_4$

Схема 1



Так как в результате внутриклеточной биотрансформации липофильного производного должно происходить высвобождение лекарства, связь между фармакологически активным фрагментом и гидрофобной транспортной системой должна легко разрушаться под действием ферментов. Применение сложноэфирной связи для соединения молекулярных фрагментов при синтезе пролекарственных производных антивирусных нуклеозидов возможно, так как последняя легко разрушается эстеразами с высвобождением лекарства/лекарств [5, 25 – 27]. Поэтому в качестве связующего звена между гидрофобной и гидрофильной частями динуклеозидсодержащих конъюгатов VII–X (схема 1) нами был выбран остаток янтарной кислоты. Для этого сначала синтезировали сукцинильные эфиры 3'-азидо-3'-дезокситимидин (AZT) V и 2',3'-дидегидро-2',3'-дидезокситимидин (d4T) VI согласно методу [28], которые затем использовали для этерификации гидроксильных компонентов I и IV при активирующем воздействии N,N'-дихлорогексилкарбодимид (DCC). Продукты реакций VII – X, выделенные колонной хроматографией на силикагеле, были получены с высокими выходами. Структуры целевых конъюгатов VII – X подтверждали <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопией. В спектрах полученных соединений наблюдали требуемое соотношение протонов спейсерных цепей и двух нуклеозидных остатков.

Начальное фосфорилирование является лимитирующей стадией во внутриклеточном метаболизме природных нуклеозидов, поскольку часть из них имеет низкое сродство к нуклеозидкиназам. Кроме того, активность нуклеозидкиназ некоторых клеток, таких как моноциты/макрофаги, может быть недостаточна для удовлетворительного фосфорилирования даже аналогов нуклеозидов, имеющих высокое сродство к ферменту (например, AZT) [2, 3, 5, 11, 16, 17, 29, 30]. Поэтому одним из подходов для решения проблемы инициации фосфорилирования является превращение противовирусных нуклеозидов в пролекарственные

формы, содержащие в положении 5' нуклеозида фосфо- или фосфонатэфирные фрагменты, что позволяет в результате внутриклеточного гидролиза получить активную монофосфатную форму нуклеозида.

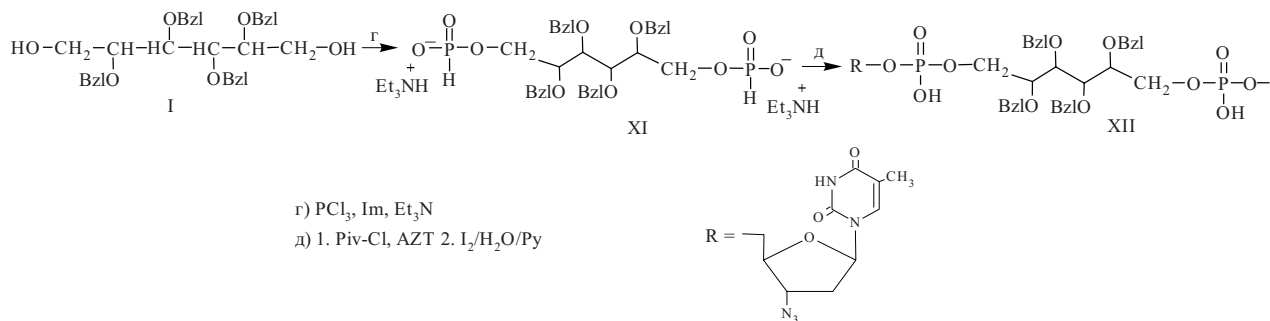
Для синтеза конъюгата XII, включающего два остатка противовирусного нуклеозида, связанных фосфодиэфирными связями с гидрофобным спейсером, мы использовали Н-фосфонатный метод фосфорилирования (схема 2). Сначала синтезированный ранее диол I подвергали фосфорилированию триимидазолилфосфитом, полученным *in situ*, в присутствии триэтиламина. Взаимодействие проходило при –10° С с последующим разложением реакционной массы водой.

Образующийся ди-Н-фосфонат XI выделяли в виде аморфной триэтиламмониевой соли хроматографией на силикагеле с выходом 74,0 %. Структуру продукта XI подтверждали <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопией, наряду с протонами бензильных (Bzl) групп, метиленовых и метиновых протонов спейсерной цепи, спектр содержит сигналы протонов Р-Н связей в области 6,43 м.д. с характерной константой спин-спинового взаимодействия (J<sub>PH</sub> 790,0 Гц). В <sup>31</sup>P ЯМР-спектре наблюдается характерный сигнал в области 3,62 м.д.

Последующую конденсацию фосфорсодержащего интермедиата XI и AZT проводили в пиридине при активирующем действии пивалоилхлорида, промежуточный Н-фосфонатдиэфир без выделения окисляли раствором йода в смеси тетрагидрофуран — пиридин — вода. После обработки и очистки реакционной массы целевой конъюгат XII выделяли с хорошим выходом (78,6 %). Данные <sup>1</sup>H ЯМР-спектроскопии показали необходимое соотношение нуклеозидных протонов и протонов гидрофобного фрагмента.

Необходимо отметить, что синтезированные на основе тетрабензильного производного идита I конъюгаты VII, VIII, XII представляют интерес не только с точки зрения улучшения предполагаемых транспортных характеристик анти-ВИЧ-активных нуклеозидов,

Схема 2



но и в плане потенциального проявления ими двойной противовирусной активности, направленной на различные стадии репликативного цикла вируса. Это обуславливается возможным образованием при внутриклеточном гидролизе данных конъюгатов двух остатков активного нуклеозида (ингибитора обратной транскриптазы) и производного идита с ионногенными группами (фосфатной и сукцинильной), являющегося аналогом замещенного тетрабензилманнита — известного ингибитора протеазы ВИЧ [31].

Для оптимальной противовирусной активности в условиях *in vitro* необходимо соблюдение сложного баланса между высокой антивирусной активностью пролекарства, скоростью его доставки в клетки-мишени, зависящей от липофильности соединения, и чувствительностью к ферментативному гидролизу. Поэтому на заключительном этапе исследования нами был изучен предварительный pH-зависимый химический гидролиз конъюгатов VIII и IX в различных буферных системах (TRIS-буфер, натрий-фосфатный и натрий-боратный буферы). В качестве модельных нуклеозидсодержащих соединений нами были выбраны сукцинильные эфиры AZT V и d4T VI. Контроль за высвобождением исходных нуклеозидов осуществляли методом ТСХ. Полученные данные позволили оценить время полупревращения ( $t_{1/2}$ ) исходных конъюгатов до свободных нуклеозидов (таблица).

Сукцинаты нуклеозидов V и VI при pH 6,4 гидролизались лишь на 30 %, тогда как в щелочных условиях наблюдался практически полный их распад с образованием свободных нуклеозидов (до 90 %).

В кислых и нейтральных условиях динуклеозидсодержащие конъюгаты VII и IX оказались устойчивыми. В основных условиях наблюдалось частичное высвобождение исходных антивирусных нуклеозидов (50 % в случае соединения VIII и 30 % в случае — IX) в течение 50 ч.

#### Экспериментальная химическая часть

Спектры  $^1\text{H}$  ЯМР регистрировали на импульсном ЯМР-спектрометре Bruker AMX-400 (Германия) с рабочей частотой 400 МГц и записывали в дейтерированных растворителях с гексаметилдисилоксаном в качестве внутреннего стандарта. Спектры  $^{31}\text{P}$  ЯМР записывали на спектрометре Bruker AMX-400 (Германия) в дейтерированных растворителях с широкополосным гетероядерным подавлением спин-спинового

взаимодействия  $^{31}\text{P}\{-^1\text{H}\}$ ; сдвиги приведены относительно 85 % ортофосфорной кислоты (внешний стандарт).

Температуры плавления измеряли на приборе Voetius (ГДР). Элементный анализ выполняли на автоматическом анализаторе Heraeus CHNO-Rapid (ФРГ). Данные элементного анализа удовлетворительно подтверждали структуры синтезированных соединений.

Колоночную адсорбционную хроматографию проводили на силикагеле Kieselgel 60 (Merck, Германия).

ТСХ проводили на пластинках Silufol UV<sub>254</sub> (Kavaliar, Чехия) (вариант 1) и на пластинках DC-Alufolien Kieselgel 60 F<sub>254</sub> (Merck, Германия) (вариант 2) в системах растворителей: хлороформ — ацетон, 90:10 (а), хлороформ — метанол, 90:10 (б), диэтиловый эфир — метанол, 90:10 (в), хлороформ — метанол — 25 % водный аммиак, 70:15:2 (г); обнаружение пятен на хроматограммах осуществляли прокаливанием при 150 °С (вариант 1), обработкой раствором серной кислоты в метаноле с последующим прокаливанием при 150 °С, а для фосфорсодержащих соединений — окрашиванием молибденовым синим с последующим прожиганием при 150 °С (вариант 2).

Этилацетат перегоняли над карбонатом калия. Пиридин, диоксан очищали кипячением и последующей перегонкой над щелочью, а затем над металлическим натрием. Триэтиламин кипятили над гидридом кальция и перегоняли. Дихлорметан перегоняли над пятиокисью фосфора. Фосфотрихлорид осушали простой перегонкой. Имидазол кристаллизовали из сухого толуола.

В работе использовали: DCC, янтарный ангидрид (Lancaster, Англия), диизобутилалюминий гидрид (DibAl-H) (1,5 М раствор в гептане), триметилхлорсилан (Aldrich, США), пивалоилхлорид, 4-N,N-диметиламинопиридин (ДМАР), додекадинитрил (Merck, Германия), периодат натрия (Acros Organics, США), а также реактивы отечественного производства: n-толуолсульфо кислоту, боргидрид натрия, имидазол, трихлорид фосфора.

2',3'-Дидегидро-3'-дезокситимидин (d4T) был любезно предоставлен ООО "Фармсинтез" (Санкт-Петербург), 3'-азидо-3'-дезокситимидин (AZT) — "Ассоциацией AZT" (Москва).

Сукцинильные эфиры AZT V и d4T VI получали как описано в [28], 2,3,4,5-тетра-О-бензил-D,L-идит (I) получали согласно [24].

**1,12-Додекандиаль (III).** К раствору 1,00 г (5,20 ммоль) додекандинитрила (II) в эфире (50 мл) в атмосфере аргона при  $-70^{\circ}\text{C}$  добавляли 8 мл 1,5 М раствора (12,50 ммоль)  $\text{DibAl-H}$  в гептане, перемешивали 30 мин при  $-70^{\circ}\text{C}$ . К реакционной массе при  $-50^{\circ}\text{C}$  добавляли смесь 25 г силикагеля и 6,5 мл воды, перемешивали 40 мин при комнатной температуре, силикагель отделяли, промывали эфиром (100 мл), а затем хлороформом (50 мл). Фильтрат упаривали досуха, остаток высушивали на масляном насосе. Выход диала III 0,99 г (90,1 %, масло),  $R_f$  0,62 (б-2). Реакция с 2,4-динитрофенилгидразином показала наличие карбонилсодержащего соединения. ПМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 1,63 – 1,11 (м, 20H, 10  $\text{CH}_2$ -цепи), 9,72 (с, 2H, 2  $\text{CH}=\text{O}$ ).

**1,12-Додекандиол (IV).** К раствору 0,30 г (1,51 ммоль) 1,12-додекандиала (III) в диоксане (15 мл) добавляли раствор 0,71 г (18,91 ммоль) боргидрида натрия в воде (8 мл). Реакционную смесь перемешивали при  $20^{\circ}\text{C}$  2,5 ч, диоксан отгоняли, остаток разбавляли водой (15 мл), экстрагировали хлороформом ( $2 \times 20$  мл), объединенную органическую фазу промывали водой ( $2 \times 30$  мл), сушили над сульфатом натрия, растворитель отгоняли. Выход диола IV 0,21 г (68,9 %);  $R_f$  0,69 (в-1), т.пл.  $72 - 74^{\circ}\text{C}$  (кристаллизация из хлороформа). ПМР-спектр ( $\text{DMCO-d}_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 1,22 – 1,30 (м, 16H, 8  $\text{CH}_2$ -цепи), 1,35 – 1,43 (м, 4H, 2  $\text{CH}_2-\text{CH}_2\text{OH}$ ), 3,39 – 3,43 (кв, 4H, 2  $\text{CH}_2\text{OH}$ ), 4,20 – 4,29 (м, 2H, 2-OH).

**Смешанный дисукцинат 2,3,4,5-тетра-О-бензил-D,L-идита и 3'-азидо-3'-дезокситимидина (VII).** Раствор 0,10 г (0,19 ммоль) диола I, 0,18 г (0,38 ммоль) сукцината AZT V, 0,054 г (0,44 ммоль) DMAP и 0,11 г (0,55 ммоль) DCC в хлористом метиле (10 мл) перемешивали 48 ч, разбавляли хлороформом, промывали водой ( $2 \times 50$  мл), органическую фазу сушили над сульфатом натрия, концентрировали в вакууме. Остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле в системе хлороформ – метанол ( $2 \rightarrow 10$  % метанола). Выход конъюгата VII 0,12 г (55,8 %, масло);  $R_f$  0,51 (б-2). ПМР-спектр ( $\text{DMCO-d}_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 1,80 (с, 6H, 2  $\text{CH}_3$ -5 Thy), 2,30 – 2,45 (м, 4H, 2  $\text{CH}_2$ -2'), 2,55 – 2,70 (м, 8H, 4  $\text{CH}_2$ -Succ), 3,75 – 3,90 (м, 4H, 1,6- $\text{CH}_2$ -), 3,95 – 4,05 (м, 2H, 2  $\text{CH}$ -3'), 4,15 – 4,20 (м, 4H, 2  $\text{CH}_2$ -5'), 4,25 – 4,35 (м, 4H, 2,3,4,5- $\text{CH}$ -), 4,40 – 4,50 (м, 2H, 2  $\text{CH}$ -4'), 4,55 – 4,70 (м, 8H, 4  $\text{CH}_2$ - $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 6,12 (м, 2H, 2  $\text{CH}$ -1'), 7,25 – 7,40 (м, 20H, 4  $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 7,45 (с, 2H, 2  $\text{CH}$ -6 Thy), 11,30 (с, 2H, 2  $\text{NH}$ -3 Thy).

**Смешанный дисукцинат 2,3,4,5-тетра-О-бензил-D,L-идита и 2',3'-дидегидро-3'-дезокситимидина**

**на (VIII).** Конъюгат VIII получали аналогично соединению VII из 157 мг (0,29 ммоль) диола I, 223 мг (0,58 ммоль) сукцината d4T VI, 85 мг (0,69 ммоль) DMAP и 179 мг (0,87 ммоль) DCC. Целевой продукт выделяли колоночной хроматографией на силикагеле, промывая смесью хлороформ – метанол ( $2 \rightarrow 5$  % метанола). Выход конъюгата VIII 210 мг (55,2 %, масло);  $R_f$  0,42 (б-2). ПМР-спектр ( $\text{DMCO-d}_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 1,76 (с, 6H, 2  $\text{CH}_3$ -5 Thy), 2,54 – 2,62 (м, 8H, 4  $\text{CH}_2$ -Succ), 3,77 – 3,89 (м, 4H, 1,6- $\text{CH}_2$ -), 4,07 – 4,64 (м, 16H, 2,3,4,5- $\text{CH}$ -), 2  $\text{CH}_2$ -5', 4  $\text{CH}_2$ - $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 4,96 (м, 2H, 2  $\text{CH}$ -4'), 5,97 (м, 2H, 2  $\text{CH}$ -2'), 6,36 (м, 2H, 2  $\text{CH}$ -3'), 6,81 (м, 2H, 2  $\text{CH}$ -1'), 7,24 – 7,36 (м, 22H, 4  $\text{C}_6\text{H}_5$ ), 2  $\text{CH}$ -6 Thy), 11,36 (с, 2H, 2  $\text{NH}$ -3 Thy).

**Смешанный дисукцинат 1,12-додекандиола и 3'-азидо-3'-дезокситимидина (IX).** Соединение IX получали аналогично конъюгату VII из 28 мг (0,14 ммоль) диола IV, 132 мг (0,27 ммоль) сукцината AZT V, 40 мг (0,32 ммоль) DMAP и 85 мг (0,41 ммоль) DCC. Целевой продукт выделяли колоночной хроматографией на силикагеле в системе хлороформ – метанол ( $1,5 \rightarrow 5$  % метанола). Выход конъюгата IX 80 мг (61,0 %, масло);  $R_f$  0,57 (в-2). ПМР-спектр ( $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 1,14 – 1,46 (м, 20H, 10  $\text{CH}_2$ -цепи), 1,50 – 1,70 (м, 4H, 2  $\text{CH}_2\text{O}$ -), 1,93 (с, 6H, 2  $\text{CH}_3$ -5 Thy), 2,26 – 2,49 (м, 4H, 2  $\text{CH}_2$ -2'), 2,57 – 2,72 (м, 8H, 4  $\text{CH}_2$ -Succ), 3,98 – 4,11 (м, 2H, 2  $\text{CH}$ -3'), 4,18 – 4,37 (м, 4H, 2  $\text{CH}_2$ -5'), 4,45 – 4,53 (м, 2H, 2  $\text{CH}$ -4'), 6,08 – 6,18 (т, 2H, 2  $\text{CH}$ -1'), 7,31 (с, 2H, 2  $\text{CH}$ -6 Thy), 9,08 (с, 2H, 2  $\text{NH}$ -3 Thy).

**Смешанный дисукцинат 1,12-додекандиола и 2',3'-дидегидро-3'-дезокситимидина (X).** Производное X получали аналогично соединению VII из 30 мг (0,15 ммоль) диола IV, 115 мг (0,30 ммоль) сукцината d4T VI, 44 мг (0,36 ммоль) DMAP и 93 мг (0,45 ммоль) DCC. Целевой продукт выделяли колоночной хроматографией на силикагеле, элюент — хлороформ – метанол (97:3). Выход конъюгата X 65 мг (54,4 %, масло.);  $R_f$  0,46 (в-2). ПМР-спектр ( $\text{DMCO-d}_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 1,20 – 1,35 (м, 20H, 10  $\text{CH}_2$ -цепи), 1,48 – 1,58 (м, 4H, 2  $\text{CH}_2\text{O}$ -), 1,78 (с, 6H, 2  $\text{CH}_3$ -5 Thy), 2,48 – 2,65 (м, 8H, 4  $\text{CH}_2$ -Succ), 3,94 – 4,03 (м, 4H, 2  $\text{CH}_2$ -5'), 4,96 – 5,00 (м, 2H, 2  $\text{CH}$ -4'), 5,98 – 6,03 (м, 2H, 2  $\text{CH}$ -2'), 6,36 – 6,43 (м, 2H, 2  $\text{CH}$ -3'), 6,79 – 6,85 (д, 2H, 2  $\text{CH}$ -1'), 7,27 (с, 2H, 2  $\text{CH}$ -6 Thy), 11,36 (с, 2H, 2  $\text{NH}$ -3 Thy).

**2,3,4,5-Тетра-О-бензил-D,L-идит-1,6-ди-О-водородфосфонат, дитриэтиламмониевая соль (XI).** К раствору 0,93 г (13,6 ммоль) имидазола в хлористом метиле (10 мл) при перемешивании при  $0^{\circ}\text{C}$  последовательно прибавляли 0,52 мл (6,00 ммоль) фосфотрихлорида и 2,14 мл (15,4 ммоль) триэтиламина, перемешивали 10 мин, охлаждали до  $-5^{\circ}\text{C}$  и прибавляли раствор 0,27 г (0,50 ммоль) 2,3,4,5-тетрабензил-D,L-идита I в хлористом метиле (10 мл). Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре 1,5 ч, добавляли 1 М водный триэтиламинбикарбонатный буфер (20 мл), перемешивали 15 мин, добавляли хлороформ (100 мл), органический слой промывали 1 М водным триэтиламинбикарбонатным буфером ( $2 \times 120$  мл), сушили над сульфатом натрия, растворитель отгоняли, остаток очищали коло-

Значения времени полупревращения соединений V, VI, VIII, IX.

pH	Время полупревращения ( $t_{1/2}$ ), ч			
	Сукцинат		Смешанный дисукцинат	
	AZT V	d4T VI	2,3,4,5-тетра-О-бензил-D,L-идита и d4T (VIII)	1,12-додекандиола и AZT (IX)
6,4	> 50	> 50	устойчиво	устойчиво
7,2	45	50	устойчиво	устойчиво
8,7	15	20	50	> 50



ночной хроматографией на силикагеле, элюируя соединением XI смесью хлороформ – метанол (10 → 20 % метанола). Выход ди-Н-фосфоната XI 0,36 г (80,4 %, аморфное вещество);  $R_f$  0,29 (г-2); ПМР-спектр (ДМСО- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 1,12 – 1,28 (т, 18H, 6  $CH_3$ -триэтиламин), 2,98 – 3,12 (кв, 12H, 6  $CH_2$ -триэтиламин), 3,79 – 4,02 (м, 8H, 2,3,4,5- $CH$ -, 2  $CH_2$ -O-), 4,44 – 4,72 (м, 8H, 4  $CH_2$ - $C_6H_5$ ), 6,43 (д, 2H, 2- $PH$ -,  $J_{P,H}$  790 Гц), 7,08 – 7,37 (м, 20H, 4  $C_6H_5$ ), 8,35 (с, 2H, 2  $NH$ -триэтиламин),  $^{31}P$  ЯМР-спектр (ДМСО- $d_6$ ,  $\delta$ , м.д.): 3,62.

**Бисфосфодиэфир 2,3,4,5-тетра-О-бензил-D, L-идита и 3'-азидо-3'-дезокситимидина (XII).** 55,0 мг (0,063 ммоль) ди-Н-фосфоната XI и 67,3 мг (0,25 ммоль) AZT высушивали упариванием с пиридином (3 × 2 мл), растворяли в пиридине (4 мл) и при комнатной температуре добавляли 40 мкл (0,32 ммоль) пивалоилхлорида. Через 30 мин добавляли раствор 81,3 мг (0,32 ммоль) йода в смеси тетрагидрофуран – пиридин – вода (8:1:1, v/v, 1,65 мл), перемешивали 20 мин, добавляли 5 % раствор бисульфита натрия (2,5 мл), разбавляли хлороформом (10 мл), промывали 5 % раствором бисульфита натрия (2 × 5 мл), сушили над сульфатом натрия, растворитель отгоняли в вакууме, остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле, элюируя целевой продукт XII смесью хлороформ – метанол (90:10). Выход целевого фосфодиэфира XII 59,4 мг (78,6 %),  $R_f$  0,64 (г-2); ПМР-спектр (CDCl $_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 1,73 (с, 6H, 2  $CH_3$ -5 Thy), 2,22 – 2,47 (м, 6H, 2  $CH_2$ -2', 3,4- $CH$ -цепи), 3,02 – 3,28 (м, 6H, 2,5- $CH$ -цепи, 2  $CH_2$ -O-), 3,78 – 4,86 (м, 16H, 2  $CH$ -3', 2  $CH$ -4', 2  $CH_2$ -5', 4  $CH_2$ - $C_6H_5$ ), 5,98 – 6,22 (т, 2H, 2  $CH$ -1'), 7,08 – 7,32 (м, 22H, 4  $C_6H_5$ , 2  $CH$ -6 Thy), 7,70 – 7,95 (с, 2H, 2  $NH$ -Thy).

**Кинетические исследования.** Водный буфер (1,0 мл) (TRIS-буфер, pH 6,4; Na-фосфатный буфер, pH 7,2; Na-боратный буфер, pH 8,7) уравнивали при температуре 37 °C и смешивали с растворами (1,0 мл) конъюгатов VIII, IX, сукцинильных эфиров AZT V и d4T VI в смеси вода – ДМСО (1:2), также уравниваемыми при температуре 37 °C (конечная концентрация соединений в гидролизуемой смеси составила 0,006 моль/л). Протекание гидролиза контролировали с помощью ТСХ в системе хлороформ – метанол – вода (65:25:4), приблизительное содержание исходных соединений и образующихся свободных нуклеозидов в гидролизуемых смесях оценивали по данным ТСХ-контроля с помощью УФ-детекции.

## ЛИТЕРАТУРА

1. P. Huang, D. Farquhar, and W. Plunkett, *J. Biol. Chem.*, **265**(20), 11914 – 11918 (1990).

- D. M. Huryh and M. Okabe, *Chem. Rev.*, **92**(8), 1745 – 1768 (1992).
- E. De Clercq, *J. Med. Chem.*, **38**(14), 2491 – 2517 (1995).
- K. Parang, L. I. Wiebe, and E. E. Knaus, *J. Pharm. Pharm. Sci.*, **1**(3), 108 – 114 (1998).
- K. Parang, L. Weibe, and E. E. Knaus, *J. Cur. Med. Chem.*, **7**(10), 995 – 1039 (2000).
- H. Mitsuya and S. Broder, *Nature*, **325**, 773 (1987).
- K. Y. Hostetler, L. M. Stuhmiller, H. B. M. Lenting, et al., *J. Biol. Chem.*, **265**(11), 6112 – 6117 (1990).
- C. McGuigan, R. N. Pathirana, N. Mahmood, et al., *Antivir. Res.*, **17**(4), 311 – 321 (1992).
- E. T. Hall, J.-P. Yan, P. Melancon, et al., *J. Biol. Chem.*, **269**(20), 14355 – 14358 (1994).
- D. Bonnaffe, B. Dupraz, J. Ughetto-Monfrin, et al., *J. Org. Chem.*, **61**(3), 895 – 902 (1996).
- C. Meier, M. Lorey, E. De Clercq, et al., *J. Med. Chem.*, **41**(9), 1417 – 1427 (1998).
- M. H. St. Clair, J. L. Martin, G. Tudor-Williams, et al., *Science*, **253**, 1557 – 1559 (1991).
- T. Kawaguchi, T. Endoh, T. Seki, et al., *J. Pharm. Sci.*, **80**, 404 – 405 (1991).
- J. M. Bailey, K. A. Nelson, M. Lightfoote, et al., *Biochem. Soc. Trans.*, **26**(4), S390 (1998).
- T. Seki, T. Kawaguchi, and K. Juni, *Pharm. Res.*, **7**, 948 – 952 (1990).
- A. Q. Siddiqui, C. Ballatore, C. McGuigan, et al., *J. Med. Chem.*, **42**(20), 4122 – 4128 (1999).
- A. Q. Siddiqui, C. Ballatore, C. McGuigan, et al., *J. Med. Chem.*, **42**(3), 393 – 399 (1999).
- J. Dessolin, P. Galea, P. Vlieghe, et al., *J. Med. Chem.*, **42**(2), 229 – 241 (1999).
- H. Schott, P. S. Ludwig, A. Immelmann, et al., *Eur. J. Med. Chem.*, **34**(4), 343 – 352 (1999).
- S. T. Jan, M. J. Shin, T. K. Venkatachalam, et al., *Antivir. Chem. Chemotherapy*, **10**(1), 39 – 46 (1999).
- G. L. Kucera, C. L. Goff, N. Iyer, et al., *Antivir. Res.*, **50**(2), 129 – 137 (2001).
- T. Mavromoustakos, T. Calogeropoulou, M. Koufaki, et al., *J. Med. Chem.*, **44**(11), 1702 – 1709 (2001).
- H. Matsumoto, T. Kimura, T. Hamawaki, et al., *Bioorg. Med. Chem.*, **9**(6), 1589 – 1600 (2001).
- Е. М. Орехова, И. Н. Грачева, Б. А. Клящицкий и др., *Журн. орган. химии*, **29**(11), 1754 – 1757 (1993).
- P. Buchwald and N. Bodor, *Pharmazie*, **57**(2), 87 – 93 (2002).
- N. M. Mahfouz and M. A. Hassan, *J. Pharm. Pharmacol.*, **53**(6), 841 – 848 (2001).
- J. Takata, Y. Karube, Y. Nagata, et al., *J. Pharm. Sci.*, **84**, 96 – 100 (1995).
- Yu. V. Berezovskaya, M. V. Chudinov, Yu. G. Kirillova, et al., *Nucleosides & Nucleotides*, **17**, 2127 – 2133 (1998).
- R. J. Jones and N. Bischofberger, *Antiviral Res.*, **27**(1, 2), 1 – 17 (1995).
- J. Zemlicka, *Biochim. Biophys. Acta.*, **1587**(2), 276 – 286 (2002).
- G. A. Bouzide, G. Sauve, and J. Yelle Seigny, *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, **13**(20), 3601 – 3605 (2003).

Поступила 04.10.05

## SYNTHESIS OF ANTI-HIV NUCLEOSIDE CONJUGATES WITH LIPOPHILIC DIOL COMPOUNDS

O. A. Tuchnaya, S. N. Elizarova, S. A. Sharikova, N. S. Shastina, A. E. Stepanov, A. M. Yurkevich, and V. I. Shvets

Moscow State Academy of Fine Chemical Technology, Moscow, Russia

Synthesis of anti-HIV nucleoside lipophilic derivatives with diol compounds, in which two antiviral pharmacophore residues are bound by one hydrophobic linker, is described. It is suggested to use 2,3,4,5-tetra-O-benzyl-D, L-iditol and 1,12-dodecandiol as hydrophobic transport systems. Succinic and phosphodiester fragments were used for binding molecular units the target conjugates.