



УДК 577.113.547.854.4'455.562.057

© 1992 г. Е. А. Широкова

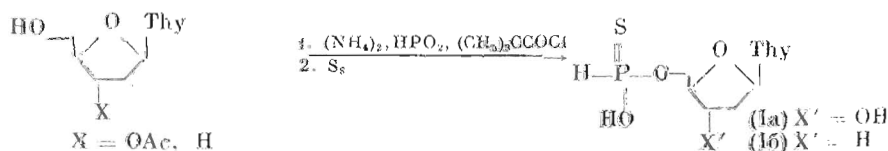
СИНТЕЗ НОВЫХ 5'-Н-ТИОФОСФОНАТОВ ПИРИМИДИНОВ

Институт молекулярной биологии им. В. А. Энгельгардта РАН, Москва

В результате взаимодействия 3'-О-ацетилтимидина или 3'-дезокситимидина и триэтиламмониевой соли фосфорноватистой кислоты в присутствии пивалондихлорида с последующим окислением *in situ* промежуточного фосфината серой синтезируются 5'-Н-тиофосфонаты тимидина и 3'-дезокситимидина. Полученные соединения, по данным ^1H - и ^{31}P -ЯМР-спектров, являются смесью (1:1) диастереомеров. Синтезированные фосфонаты испытаны как потенциальные ингибиторы репродукции ВИЧ.

В настоящее время в качестве лекарственных препаратов против СПИДа допущены к применению лишь 3'-азидо-3'-дезокситимидин (АЗТ) и 2',3'-дидезоксицитозин. Еще несколько (2',3'-дидезоксиаденозин, 2',3'-дидезоксицитидин, 3'-дезоксиз-2',3'-дидегидротимидин и др.) проходят клинические испытания. В то же время было показано, что некоторые 5'-Н-фосфонаты 3'-азидо-2',3'-дидезоксинуклеозидов, 2',3'-дидезоксинуклеозидов и 2',3'-защитенных рибонуклеозидов превышают по активности и индексу селективности соответствующие нуклеозиды в 10 раз [1–3]. Учитывая большую стабильность Н-фосфонатов нуклеозидов по сравнению с фосфатами к действию ферментов, гидролизующих фосфатные группы, можно предположить, что такие аналоги нуклеотидов способны проникать через клеточную мембрану внутрь клетки и, будучи узнаваемыми клеточными ферментами, превращаться в соответствующие аналоги трифосфатов. Поэтому нам показалось целесообразным исследовать противовирусную активность 5'-Н-тиофосфонатов нуклеозидов, которые являются близкими структурными аналогами соответствующих 5'-Н-фосфонатов.

В настоящей работе приведен синтез 5'-Н-тиофосфонатов тимидина и 3'-дезокситимидина (Ia, б), ранее в литературе не описанных, а также результаты испытаний их против-ВИЧ-активности.



Соединения (Ia) и (Iб) получают в результате взаимодействия 3'-О-ацетилтимидина или 3'-дезокситимидина с эквивалентным количеством триэтиламмониевой соли фосфорноватистой кислоты в пиридине в присутствии пивалондихлорида и последующего окисления *in situ* полученных фосфинатов элементарной серой [4].

Теофосфонаты (Ia) и (Iб) — единственные продукты реакции. Их выход после очистки на колонке с полиобъемной смолой, а затем на обращенно-фазовой колонке Lichrospher C18 составляет 70–80%. Это твердые вещества, устойчивые в нейтральной и щелочной средах. Их строение доказано методами ^1H - и ^{31}P -ЯМР, УФ- и масс-спектрометрии.

Данные ^{31}P -ЯМР-спектров тиофосфонатов (Ia) и (Ib)

Тиофосфонат	δ , м. д.	$^1J_{\text{P-H}}$, Гц	$^2J_{\text{P-H}}$, Гц
(Ia)	54,69 54,80	591 592	8,8 8,6
(Ib)	54,54 54,67	592 593	9,1 9,3

В спектрах ^1H - и ^{31}P -ЯМР наблюдают по два набора сигналов Н-тиофосфонатной группы (см. «Экспериментальную часть» и таблицу). Следовательно, соединения (Ia, б) — смесь диастереомеров с хиральным центром при атоме фосфора, что согласуется с данными [4].

Оба соединения изучены в клеточной культуре лимфоцитов МТ4, инфицированной ВИЧ-1. Они не подавляли репродукции ВИЧ вплоть до концентрации 100 мкМ (АЗТ как внутренний контроль подавлял на 50% продукцию ВИЧ в концентрации 0,006 мкМ). Исследование проведено д-ром Б. Польски в Онкологическом центре Нью-Йорка.

Экспериментальная часть

В работе использованы тимидин и пивалоилхлорид (Fluka), триэтиламин (Merck). 3'-Дезокситимидин получен по методике [5]. Растворители абсолютировали по стандартным методикам. ТСХ проводили в системе изопропанол — аммиак — вода (7:1:2) на пластинках Kieselgel 60 F254 (Merck). Для колоночной хроматографии использовали DEAE-целлюлозу DE-32 (Whatman) и Lichroprep C18 (Merck). Спектры ^1H -ЯМР (внутренний стандарт — Bu^tOH) и ^{31}P -ЯМР (внутренний стандарт — триметилфосфат) регистрировали на спектрометре Bruker 250 (растворитель — D_2O). УФ-спектры снимали на спектрофотометре Specord UV VISM-40 (ГДР), масс-спектры (FAB) — на спектрометре Kratos TC50.

Н-Тиофосфонаты тимидина и 3'-дезокситимидина (Ia) и (Ib). Раствор 81 мг (1 ммоль) аммониевой соли фосфорноватистой кислоты в 1 мл воды упаривают с абс. триэтиламином (3×1 мл), разбавляют 3 мл абс. пиридина и охлаждают до 2–4°С. К холодному раствору при перемешивании прибавляют раствор 1 ммоль нуклеозида в 1 мл абс. пиридина и 120,5 мг (1 ммоль) пивалоилхлорида, перемешивают 5 мин при этой температуре и затем добавляют 32 мг (1 ммоль) мелко растертой серы. Через 2 ч перемешивания при 20°С (контроль по ТСХ) реакционную смесь разбавляют 3 мл воды и упаривают. Остаток разбавляют водой до 100 мл и наносят на колонку с DEAE-целлюлозой (2,0×20 см) в HCO_3^- -форме. Элюировали раствором NH_4HCO_3 (линейный градиент от 0 до 0,15 М, pH 7,5; общий объем 0,5 л). Фракции, содержащие целевой фосфонат, упаривали и переупаривали с водой (5×5 мл). Остаток хроматографировали на колонке Lichroprep C18 (элюент — вода). Фракции, содержащие продукт, упаривали и лиофилизовали.

Соединение (Ia): выход 70%; ^1H -ЯМР-спектр, δ (м. д.): 2,24с (3H, 5- CH_3), 2,45–2,50м (2H, 2'-H), 4,20–4,30м (3H, 4'-H, 5'- CH_2), 4,65м (1H, 3'-H), 6,42т (1H, 1'-H), 7,81с (1H, 6-H), 7,97д (0,5H, $J_{\text{H-P}}$ 591 Гц, H-P^A), 7,99д (0,5H, $J_{\text{H-P}}$ 592 Гц, H-P^B); ^{31}P -ЯМР-спектр — см. таблицу; масс-спектр (m/z): 323 ($M^+ + 1$); УФ-спектр: $\lambda_{\text{max}}^{\text{H}_2\text{O}}$ 267 нм (ϵ 8600).

Соединение (Ib): выход 81%; ^1H -ЯМР-спектр, δ (м. д.): 1,96с (3H, 5- CH_3), 2,10–2,50м (4H, 2'-H, 3'-H), 4,15–4,21м (1H, 4'-H), 4,39–4,44м

(2H, 5'-CH₂), 6,13–6,18τ (1H, 1'-H), 7,89_д (1H, J_{5,6} 1,2 Гц, 6-H), 7,92_д (0,5H, J_{Н-Р}^А 592 Гц, Н-Р^А), 7,93_д (0,5H, J_{Н-Р}^В 593 Гц, Н-Р^В); ³¹P-ЯМР-спектр – см. таблицу; масс-спектр (m/z): 307 (M⁺+1); УФ-спектр: λ_{max}^{H₂O} 268 (ε 9800).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Хорлин А. А., Тарусова Н. Б., Дяткина Н. Б., Краевский А. А., Бабилашвили Р. Ш., Галегов Г. А., Жданов Б. М., Корнеева М. Н., Носик Д. В., Майорова С. Н. // Патент США 5,043,438, Invention PCT/SU 88/00271, приоритет от 29.09.1987.
2. Карамов Э. В., Лукашов В. В., Горбачева А. П., Макарова Т. В., Корнилова Г. В., Тарусова Н. Б., Краевский А. А. // Молекулярн. биология. 1992. Т. 26. № 1. С. 228–234.
3. Atrazheva E. D., Lukin M. A., Jasko M. V., Shushkova T. V., Kravetsky A. A., Balzarini J., DeClercq E. // Med. Chem. Res. 1991. V. 1. № 2. P. 155–156.
4. Stavinski J., Thelin M., Westman E., Zain R. // J. Org. Chem. 1990. V. 55. № 11. P. 3503–3506.
5. Mansuri M. M., Starrett J. E., Ghazzouli I., Hitchcock M. J. M., Sterzycki R. Z., Lin T.-S., Prusoff W. H. // J. Med. Chem. 1989. V. 32. № 2. P. 461–466.

Поступила в редакцию
24.1.1992

После доработки
7.IV.1992

Е. В. ШИРОКОВА

SYNTHESIS OF NEW PYRIMIDINE 5'-H-THIOPHOSPHONATES

V. A. Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences

Thymidine and 3'-deoxythymidine 5'-H-thiophosphonates were synthesized by interaction of 3'-O-acetylthymidine or 3'-deoxythymidine and ammonium phosphinate in the presence of pivaloyl chloride and following oxidation in situ by sulfur of the intermediate phosphinates. The compounds seemed to be 1:1 mixture of diastereomers with chiral phosphorus. The prepared compounds were tested as potential inhibitors of HIV production.