



УДК 547.593.261'118.057

ИССЛЕДОВАНИЯ В ОБЛАСТИ ПРОИЗВОДНЫХ АСИММЕТРИЧНО ЗАМЕЩЕННОГО *мио*-ИНОЗИТА. XXXIX. СИНТЕЗ КОНЪЮГАТА 2',3'-ДИДЕГИДРО-3'-ДЕЗОКСИТИМИДИНА С ФОСФАТИДИЛИНОЗИТОМ, НОВОГО НУКЛЕОЗИДФОСФОЛИПИДА С ПОТЕНЦИАЛЬНОЙ АНТИ-ВИЧ-АКТИВНОСТЬЮ

© 2003 г. Н. С. Шастина[#], О. А. Тучная, Л. И. Эйнисман, И. И. Каширичева, А. Е. Степанов, А. М. Юркевич, В. И. Швец

Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, просп. Вернадского, 86

Поступила в редакцию 19.02.2002 г. Принята к печати 26.03.2002 г.

Фосфорилированием тетразамещенного производного *мио*-инозита с использованием *H*-фосфонатного и амидофосфитного методов синтезирован частично защищенный фосфатидилинозит, содержащий одну незамещенную гидроксильную группу в циклитной части молекулы. Выявлены преимущества *H*-фосфонатного метода при получении селективно защищенного монофосфоинозида, позволяющего сократить число стадий синтеза. Для синтеза целевого нуклеозидфосфолипида исследованы два варианта конъюгирования 2',3'-дидегидро-3'-дезокситимидина с фосфатидилинозитом через остаток янтарной кислоты.

Ключевые слова: *мио*-инозит; фосфатидилинозит; *H*-фосфонатный метод; фосфоамидитный метод; 2',3'-дидегидро-3'-дезокситимидин.

ВВЕДЕНИЕ

В настоящее время активно ведутся исследования по структурной модификации неприродных аналогов нуклеозидов, обладающих высокой противовирусной активностью и являющихся по механизму действия ингибиторами обратной транскриптазы вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) [2–10]. К соединениям данного класса относятся 2',3'-дидегидро-3'-дезокситимидин (d4T), 3'-азидо-3'-дезокситимидин (AZT), 2',3'-дидезоксиинозин (ddI) и др. К недостаткам этих соединений можно отнести их высокую токсичность и, в то же время, слабую способность прохождения через клеточные мембраны, вызывающую необходимость увеличивать дозы при введении медицинских препаратов на их основе [11–13]. Кроме того, отмечен эффект привыкания вирусов к таким препаратам.

Эти обстоятельства стимулируют изучение путей синтеза и свойств различных пролекарственных веществ, представляющих собой конъюгаты

анти-ВИЧ-активных нуклеозидов с гидрофобными соединениями. Введение гидрофобного фрагмента придает препаратам новые свойства, как правило, проявляющиеся в снижении токсичности и в увеличении способности конъюгата проникать в клетки-мишени за счет структурной аффинности липофильного компонента к липидному матриксу клеточных мембран. Немаловажное значение также имеет возможность преодоления этими соединениями гематоэнцефалического барьера. Многочисленные работы свидетельствуют о повышении терапевтической эффективности подобных липофильных конъюгатов нуклеозидов, проявляющих сходную или более высокую антивирусную активность в сравнении с исходными нуклеозидами [3–10], причем определяющую роль здесь играет липофильность гидрофобного участка, а не электронные или стерические эффекты [3, 14].

Ранее нами в развитие этого направления с целью улучшения транспортных свойств лекарственных препаратов нуклеозидной природы и возможности более эффективного проникновения в клетку фармакологически активных неприродных аналогов нуклеозидов (при расщеплении конъюгатов мембранными ферментами либо за счет рецепторно-опосредованного проникновения этих веществ внутрь клетки) были синтезированы некоторые производные анти-ВИЧ-активных нук-

Сообщение XXXVIII см. [1].

Сокращения: d4T – 2',3'-дидегидро-3'-дезокситимидин; AZT – 3'-азидо-3'-дезокситимидин; DCC – *N,N*-дициклогексилкарбодимид; DMAP – 4-*N,N*-диметиламинопиридин; PvcI – пивалоилхлорид; Thy – тимин; ИАДРЭП – ионизация при атмосферном давлении распылением в электрическом поле.

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 434-83-55; эл. почта: biotechnology@mtu-net.ru).

леозидов, модифицированные гидрофобными фрагментами [15].

В настоящей работе мы сообщаем о синтезе нового нуклеозидного конъюгата – смешанного сукцината d4T и фосфатидилинозита (XI). Фосфоинозитиды, являясь минорными компонентами мембран, принимают активное участие в процессах клеточной регуляции [16–18]. За счет конъюгирования их с неприродными аналогами нуклеозидов возможно ожидать появления у конъюгатов способности проникать через клеточную мембрану и концентрироваться в клетках-мишенях. Кроме того, из данных литературы известно о существовании липидпереносящих белков, имеющих большое сродство к инозитсодержащим фосфолипидам [19, 20]. Следовательно, представляло интерес исследовать путь синтеза и противовирусную активность связанного с фосфоинозитидным фрагментом нуклеозида и оценить вклад данного липофильного звена в свойства образованного конъюгата.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Ввиду низкого содержания фосфоинозитидов в природных источниках, за исключением фосфолипидной фракции дрожжей и мозга млекопитающих, выделение их в препаративных количествах сопряжено с рядом затруднений. Для систематических исследований взаимоотношений структура–свойство–функции, как правило, требуются соответствующие производные различного типа, получение которых для фосфоинозитидов возможно в основном только методами химического синтеза. Для направленного получения инозитсодержащих нуклеозидов необходимо наличие частично замещенных фосфатидилинозитов, которые имеют в определенном положении циклитного кольца свободную гидроксильную группу, открытую для последующего связывания с нуклеозидом. Поэтому на первом этапе исследования нами был разработан простой метод синтеза защищенного фосфоинозитида (IV).

Большинство ранее выполненных синтезов фосфатидилинозитов включает многостадийное получение защищенного 1-*O*-фосфата *sn*-*мио*-инозита*, который затем конденсируют с 1,2-диацил-*sn*-глицерином с образованием требуемой фосфодиэфирной структуры липида. Реализован также обратный порядок соединения структурных фрагментов синтезируемого фосфоинозитида – первоначальное фосфорилирование 1,2-диацил-*sn*-глицерина и конденсация полученного фосфорного соединения с пентазамещенным производным *мио*-инозита (незамещенный гидроксил находится в

положении 1 циклитного кольца). В последние годы по второму варианту синтез сложных инозитсодержащих липидов и гликолипидов природной и модифицированной структуры был осуществлен с использованием соединений трехвалентного фосфора [23–26]. *H*-Фосфонатные и фосфоамидитные производные диацилглицерина являются удобными ключевыми соединениями при получении данного класса фосфолипидов, обладая высокой реакционной способностью по отношению к пространственно затрудненным вторичным гидроксилам *мио*-инозита.

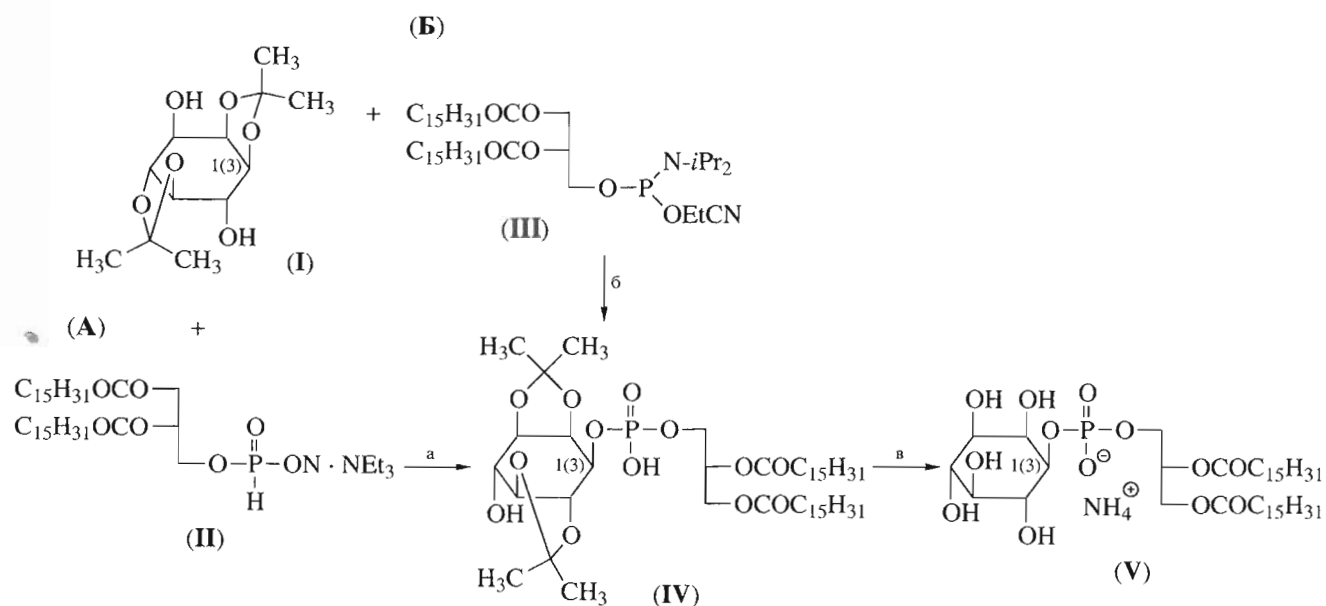
Традиционный подход к синтезу пентазамещенных производных *мио*-инозита базируется на использовании 1(3),4(6),5,6(4)-тетразамещенного *мио*-инозита (наиболее часто для этой цели использовали соответствующий тетрабензиловый эфир), из которого путем поочередного блокирования-деблокирования гидроксигрупп в положениях 1(3) и 2 получают 2,3(1),4(6),5,6(4)-пентазамещенное производное: далее обычными методами создают фосфодиэфирную структуру фосфоинозитида [17].

Недостатки этого подхода заключаются в существенной трудоемкости и многостадийности превращений исходного тетразамещенного производного, поскольку селективное блокирование аксиально ориентированной гидроксигруппы в положении 2 практически невозможно осуществить в присутствии значительно более реакционноспособной экваториальной гидроксигруппы в положении 1 циклитного кольца.

Дальнейшее развитие синтетических исследований инозитсодержащих фосфолипидов и их конъюгатов с биологически активными соединениями вызывает необходимость поиска новых, более простых в исполнении препаративных методов синтеза промежуточных фосфодиэфирных производных *мио*-инозита. В настоящей работе изучен упрощенный путь к синтезу таких соединений – прямое фосфорилирование тетразамещенного производного *мио*-инозита (I) *H*-фосфонатом или амидофосфитом 1,2-диацил-*rac*-глицерина (II), (III) (схема 1, А и 1, Б соответственно), использующее известные различия в реакционной способности гидроксигрупп в асимметрично замещенных *мио*-инозитах [17]. В качестве исходного тетразамещенного производного *мио*-инозита использован 1,2(3);4(6),5-ди-*O*-изопропилиден-*sn*-*мио*-инозит (I).

Взаимодействие диизопропилиденового кетала *мио*-инозита (I) с триэтиламмониевой солью 1,2-дипальмитоил-*rac*-глицеро-3-*H*-фосфоната (II) [27] в присутствии пивалоилхлорида в безводном пиридине (10–15 мин при 20°C) и последующее окисление продукта конденсации (вещество не выделялось) водно-пиридиновым раствором йода (5 мин при 20°C) приводили, после обработки и колоночной хроматографии на силикагеле, с 86%

* Для асимметрично замещенных производных *мио*-инозита и глицерина использована номенклатура стереоспецифических соединений [21, 22].



а) 1. PvCl ; 2. $[\text{O}]$

б) 1. 1*H*-тетразол, $\text{CH}_2\text{Cl}_2\text{-CH}_3\text{CN}$ (3 : 1); 2. $[\text{O}]$

в) 1. 50% AcOH , 110°C ; 2. 4 н. NH_4OH , EtOH-CHCl_3 (3 : 1)

Схема 1.

выходом к защищенному фосфоинозитиду (IV) (схема 1, А). Строение соединения (IV) подтверждено данными ТСХ, ^1H - и ^{31}P -ЯМР-спектроскопии, а также путем превращения в монофосфоинозитид (V) заведомой структуры: при кипячении соединения (IV) с 50% уксусной кислотой, после обычной обработки был выделен свободный монофосфоинозитид (V), константы которого соответствовали литературным данным [28]. Это свидетельствовало о селективном фосфорилировании гидроксигруппы в положении 1 тетразамещенного производного (I) при его взаимодействии с *H*-фосфонатом (II).

Реакция дикетала (I) с 1,2-дипальмитоил-*rac*-глицеро-*O*-(*N,N*-диизопропиламино)-2-цианэтилфосфитом (III) [29] в присутствии тетразола (схема 1, Б) привела к образованию соответствующего фосфиттриэфирного производного, который без выделения окисляли в фосфат действием *tert*-бутилгидропероксида. После удаления цианэтильной защиты фосфатной группы и хроматографической очистки был выделен защищенный фосфоинозитид (IV) с выходом 21,2%. Константы и спектральные характеристики вещества (IV) были идентичны аналогичным данным образца соединения, синтезированного *H*-фосфонатным методом. Сравнение полученных результатов свидетельствует о предпочтительности использования для получения частично защищенных монофосфоинозитидов варианта синтеза А.

Синтезированное таким образом пентазамещенное производное *мио*-инозита (IV) использовали затем для получения липофильного производного d4T по его свободной гидроксильной функции (схема 2). Для этого сначала остаток янтарной кислоты, выбранный в качестве связующего звена между гидрофобной и гидрофильной частями целевого конъюгата (XI), вводили действием янтарного ангидрида (VI) на соединение (IV) в присутствии DMAP (схема 2, А). Полученное полностью замещенное производное *мио*-инозита (VII) было охарактеризовано с помощью ЯМР-спектроскопии: в ^1H -ЯМР-спектре вещества появились сигналы метиленовых протонов в области 2.60–2.82 м.д. Этерификацию соединением (VII) нуклеозида (VIII) проводили при активирующем воздействии DCC. Продукт реакции (X), выделенный колоночной хроматографией на силикагеле, был получен с 67% выходом. Структура полученного соединения подтверждена спектральными данными.

Второй вариант синтеза фосфолипидного производного (X) (схема 2, Б) заключался во взаимодействии дикетала фосфоинозитида (IV) с синтезированным по методу [15] сукцинильным эфиром d4T (IX). После проведения реакции в описанных для варианта А условиях из реакционной смеси хроматографией выделяли с выходом 61% производное (X), его характеристики совпадали с таковыми для соединения (X), синтезированного по пути А.

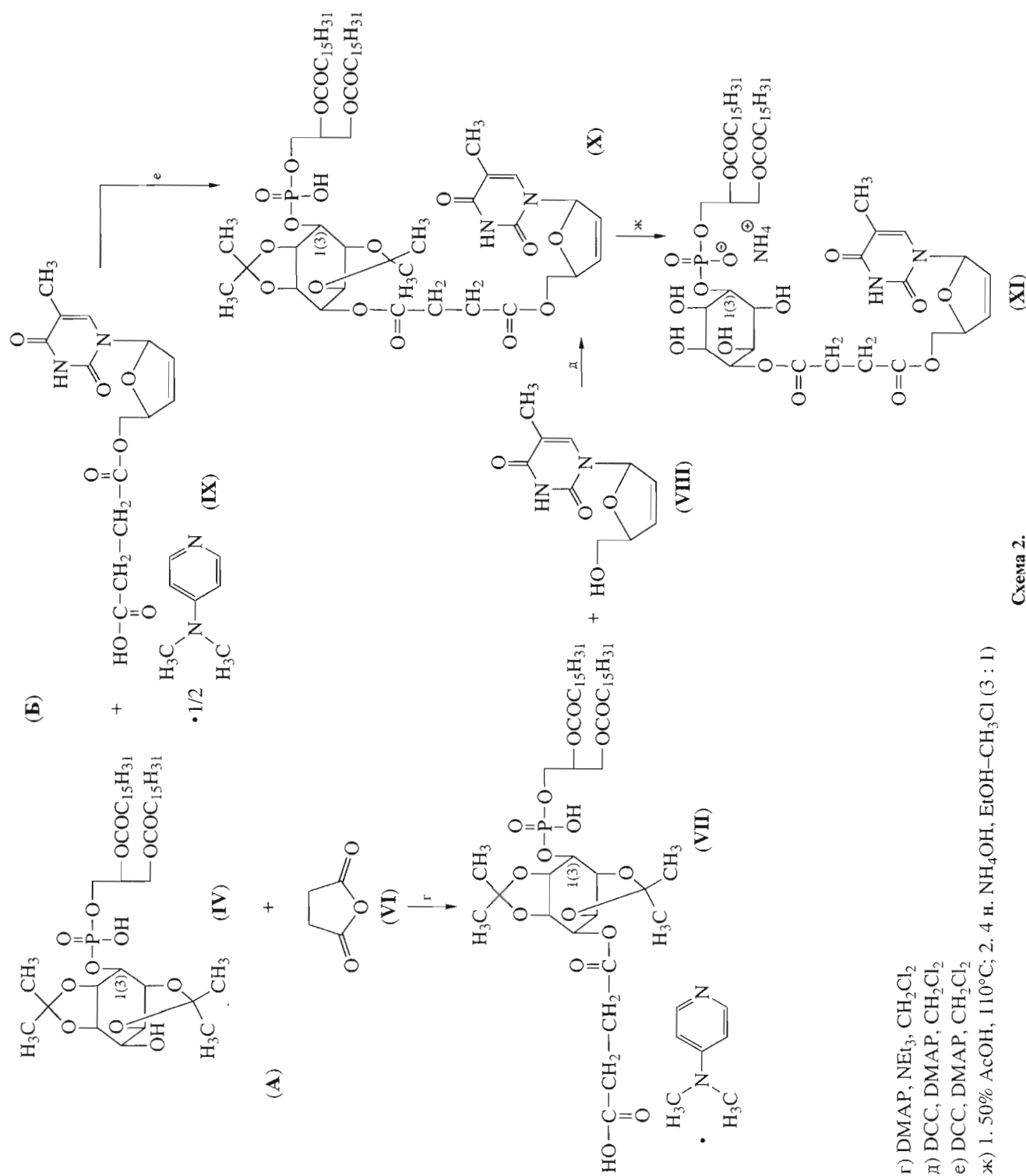


Схема 2.

- г) DMAP, NEt_3 , CH_2Cl_2
- д) DCC, DMAP, CH_2Cl_2
- е) DCC, DMAP, CH_2Cl_2
- ж) 1. 50% AcOH , 110°C ; 2. 4 н. NH_4OH , $\text{EtOH}-\text{CH}_3\text{Cl}$ (3 : 1)

Сравнивая два изученных варианта синтеза конъюгата (X), можно отметить, что более мягкой процедурой является первоначальная обработка производного фосфатидилинозита (IV) ацилирующим агентом, позволяющая практически полностью заместить имеющуюся ОН-группу на сукцинильный остаток, и последующее взаимодействие промежуточного сукцинильного эфира (VII) с нуклеозидным компонентом (VIII). Последнее превращение с участием первичного гидроксила нуклеозида (VIII) протекает быстрее и с большей степенью конверсии, нежели по пути Б, где моно-сукцинат (IX) реагирует по вторичному, пространственно затрудненному гидроксилу защищенного *мио*-инозита (IV).

На заключительном этапе синтеза действием 50% водной уксусной кислоты был проведен гидролиз изопропилиденовых групп в соединении (X). Целевой продукт (XI) выделяли в виде аммониевой соли, ее выход составил 45.3%. Данные ¹H-ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии показали наличие характерных сигналов, удовлетворительно подтверждающих структуру полученного конъюгата фосфоинозитида и d4T (XI).

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ЯМР-спектры измеряли на импульсном Фуэре-спектрометре Bruker MSL-200 (Германия). ¹H-ЯМР-спектры (δ , м.д.) регистрировали при рабочей частоте 200 МГц в дейтерированных растворителях с гексаметилдисилоксаном в качестве внутреннего стандарта. Спектры ³¹P-ЯМР – при рабочей частоте 80 МГц в дейтерированных растворителях с широкополосным гетероядерным подавлением спин-спинового взаимодействия ³¹P-¹H; сдвиги приведены относительно 85% ортофосфорной кислоты (внешний стандарт). Спектр ¹H-ЯМР целевого соединения (XI) регистрировали на спектрометре Bruker WM 500 (Германия), а его масс-спектр (ИАДРЭП) получали на приборе Firmigan MAT-900S (США).

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 хроматографию проводили на силикагеле Kieselgel 60 (Merck, Германия), ТСХ – на стеклянных пластинках DC-Alufolien Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck, Германия) в системах: хлороформ–метанол–25% водный аммиак, 70 : 15 : 2 (А), хлороформ–метанол–вода, 65 : 25 : 4 (Б); обнаруженные раствором молибдата аммония в 30% серной кислоте с последующим прокаливанием при 150–200°C.

Пиридин очищали кипячением и последовательной перегонкой над щелочью и металлическим натрием. Дихлорметан перегоняли над пятиокисью фосфора. Триэтиламин, ацетонитрил кипятили над гидридом кальция и перегоняли. Тетрагидрофуран сушили и перегоняли сначала над щелочью, а затем над алюмогидридом лития.

В работе использовали *N,N'*-дциклогексилкарбодимид, 1*H*-тетразол, *трет*-бутилгидропероксид (3.7 М раствор в ССl₄) (Fluka, Швейцария), 4-*N,N*-диметиламинопиридин, пивалоилхлорид (Merck, Германия), янтарный ангидрид (Lancaster, Англия). 2',3'-Дидегидро-3'-дезокситимидин был любезно предоставлен ООО “Фармсинтез” (Санкт-Петербург).

Производное *мио*-инозита (I) получали как описано ранее [30]. 1,2-Дипальмитоилглицеро-*H*-фосфонат (II) синтезировали по методу [27], фосфоамидитное производное диацилглицерина (III) – по методу [29]. Сукцинильный эфир d4T (IX) получали как описано [15].

2,3(1);5,6(4)-*O*-Диизопропилиден-1(3)-*O*-(*rac*-1,2-дипальмитоилглицерофосфо)-*sn*-*мио*-инозит (IV) (схема 1 А). 0.110 г (0.15 ммоль) *H*-фосфоната (II) и 0.078 г (0.30 ммоль) тетразамещенного производного *мио*-инозита (I) высушивали упариванием с пиридином (3 × 2 мл), растворяли в пиридине (2 мл) и при перемешивании добавляли 0.046 мл (0.37 ммоль) пивалоилхлорида. Через 10 мин добавляли раствор 0.076 г (0.30 ммоль) йода в смеси пиридин–вода (98 : 2, 1.5 мл), перемешивали 10 мин, разбавляли хлороформом (20 мл), промывали 5% раствором бисульфита калия (2 × 20 мл), высушивали Na₂SO₄, растворители упаривали, из остатка колоночной хроматографией на силикагеле элюированием смесью хлороформ–метанол (5 → 20% метанола) выделяли фосфодиэфир (IV). Выход 0.115 г (86%), *R*_f 0.49 (А), т. пл. 171–173°C (осаждение из ацетона). ¹H-ЯМР (CDCl₃–CD₃OD, 3 : 1; δ , м.д.): 0.86 (м, 6H, 2CH₃, пальмитоил), 1.17–1.52 (м, 60H, 2CMe₂ и 24CH₂, пальмитоил), 1.55 (м, 4H, β -CH₂), 2.08 (д, 1H, OH), 2.28 (м, 4H, α -CH₂), 3.41 (дд, 1H, H5), 3.59 (дд, 1H, H6), 3.63–4.21 (м, 7H, H3, H4, 5H глицерина), 4.53 (дд, 1H, H2), 5.26 (дд, 1H, H1). ³¹P-ЯМР-спектр (CDCl₃–CD₃OD, 3 : 1; м.д.): –2.40.

Схема 1 Б. 0.130 г (0.18 ммоль) амидофосфита диацил-*rac*-глицерина (III) и 0.065 г (0.25 ммоль) тетразамещенного производного *мио*-инозита (I) высушивали упариванием (трижды) в смеси хлористый метилен–ацетонитрил (3 : 1, 4 мл), вещество растворяли в той же смеси (4 мл) и при перемешивании добавляли 0.022 г (0.31 ммоль) 1*H*-тетразола в ацетонитриле (0.7 мл). Через 40 мин к реакционной массе добавляли 136 мл (0.27 ммоль) 3.7 М раствора *трет*-бутилгидропероксида в четыреххлористом углероде, выдерживали 1 ч при комнатной температуре, далее реакционную смесь

упаривали досуха, остаток растворяли в 10 мл дихлорметана, промывали водой (3 × 5 мл), водный слой экстрагировали дихлорметаном (2 × 5 мл), соединенные органические слои сушили над безводным Na₂SO₄, упаривали досуха, остаток растворяли в 2 мл тетрагидрофурана и добавляли 2 мл триэтиламина, выдерживали 4 ч при 20°C, затем реакционную массу упаривали, маслообразный остаток хроматографировали на силикагеле, элюируя смесью хлороформ–метанол (5 → 20% метанола) целевой фосфоинозитид (IV). Выход 0.034 г (21.2%).

1(3)-O-(rac-1,2-Дипальмитоилглицерофосфо)-sn-мио-инозит, аммониевая соль (V). Раствор 89.1 мг (0.10 ммоль) защищенного монофосфоинозитида (IV) в 50% водной уксусной кислоте (3 мл) кипятили в течение 3 ч. Растворители удаляли, остаток упаривали с этанолом (3 × 5 мл), растворяли в смеси этанол–хлороформ (3 : 1, 2 мл), добавляли 4 н. водный раствор аммиака до pH 8, после удаления растворителей аммониевую соль фосфатидилинозита (V) переосаждали ацетоном (3 мл) из хлороформа (1.5 мл). Выход 42.5 мг (51.4%). Физико-химические, хроматографические и спектральные характеристики соединения (V) совпали с таковыми для ранее полученного образца, синтезированного другим методом [28].

2,3(1);5,6(4)-O-Диизопропилиден-4(6)-O-сукцинил-1(3)-O-(rac-1,2-дипальмитоилглицерофосфо)-sn-мио-инозит, диметиламинопиридиниевая соль (VII) (схема 2 А). Раствор 0.340 г (0.38 ммоль) соединения (IV), 0.023 г (0.19 ммоль) DMAP, 0.045 г (0.45 ммоль) янтарного ангидрида (VI) и 0.050 мл (0.38 ммоль) триэтиламина в хлористом метиле (5 мл) перемешивали в течение ночи, растворители удаляли упариванием в вакууме, остаток хроматографировали на силикагеле, элюируя соединение (VII) смесью хлороформ–метанол (10 → 30% метанола). Выход 0.310 г (79.5%, аморфное), *R_f* 0.52 (Б). ¹H-ЯМР (CDCl₃–CD₃OD, 3 : 1, δ, м.д.): 0.85 (т, 6H, CH₃, пальмитоил), 1.14–1.46 (м, 60H, 2CMe₂, 24 CH₂), 1.50–1.63 (м, 4H, β-CH₂, пальмитоил), 2.27–2.48 (м, 4H, α-CH₂, пальмитоил), 2.60–2.82 (м, 4H, (CH₂)₂, сукцинил), 2.96 (с, 6H, N(CH₃)₂, DMAP), 3.47–3.73 (м, 2H, H5, H6), 3.93–4.45 (м, 7H, H2, H3, 5H глицерина), 5.09–5.33 (м, 2H, H1, H4), 6.68 (д, 2H, H3, H5, DMAP), 8.11 (д, 2H, H2, H6, DMAP).

Смешанный сукцинат d4T и 2,3(1);5,6(4)-O-диизопропилиден-1(3)-O-(rac-1,2-дипальмитоилглицерофосфо)-sn-мио-инозита (X). Раствор 135.0 мг (0.13 ммоль) соединения (VII), 29.1 мг (0.13 ммоль) d4T (VIII), 15.9 мг (0.13 ммоль) DMAP, 29.5 мг (0.14 ммоль) DCC в хлористом метиле (5 мл) перемешивали при комнатной температуре в течение ночи, растворитель отгоняли, остаток растворяли в хлороформе (50 мл), промывали водой (3 × 50 мл), органический слой сушили над Na₂SO₄,

концентрировали и очищали колоночной хроматографией на силикагеле, вымывая соединение (X) смесью хлороформ–метанол (3 → 7% метанола). Выход полностью замещенного производного *мио*-инозита (X) 101.9 мг (67.1%), *R_f* 0.74 (Б), т. пл. 156–158°C (осаждение из ацетона). ¹H-ЯМР (CDCl₃, δ, м.д.): 0.83 (т, 6H, 2CH₃, пальмитоил), 1.09–1.61 (м, 64H, 2CMe₂, 26CH₂, пальмитоил), 1.90 (с, 3H, 5-CH₃, Thy), 2.22 (м, 4H, α-CH₂, пальмитоил), 2.55–2.81 (м, 4H, (CH₂)₂, сукцинил), 3.43–3.71 (м, 2H, H5, H6 инозита), 3.88–4.67 (м, 9H, 2 H5', Thy, 5 H глицерина, H2, H3 инозита), 4.94–5.31 (м, 3H, H4', Thy, H1, H4 инозита), 5.92 (м, 1H, H2', Thy), 6.27 (д, 1H, H3', Thy), 6.97 (м, 1H, H1', Thy), 7.24 (д, 1H, H6, Thy), 8.15 (с, 1H, 3-NH, Thy).

Схема 2 Б. К раствору 89.1 мг (0.10 ммоль) замещенного производного фосфоинозитида (IV), 38.5 мг (0.10 ммоль) сукцинильного эфира d4T (IX) и 18.3 мг (0.15 ммоль) DMAP в сухом хлористом метиле (5 мл) при перемешивании при 20°C добавляли 24.8 мг (0.12 ммоль) DCC. Реакционную смесь перемешивали еще 24 ч, растворитель отгоняли, остаток растворяли в хлороформе (50 мл), промывали водой (2 × 50 мл), сушили над Na₂SO₄, концентрировали в вакууме, остаток очищали колоночной хроматографией на силикагеле, вымывая соединение (X) смесью хлороформ–метанол (3 → 7% метанола). Выход полностью замещенного производного *мио*-инозита (X) 71.0 мг (61%).

Смешанный сукцинат d4T и 1(3)-O-(rac-1,2-дипальмитоилглицерофосфо)-sn-мио-инозита, аммониевая соль (XI). Раствор 58.2 мг (0.05 ммоль) конъюгата (X) в 50% водной уксусной кислоте (3 мл) нагревали при кипении и перемешивании 3 ч, растворители упаривали, остаток упаривали с этанолом (3 × 5 мл). Вещество растворяли в смеси хлороформ–этиловый спирт (3 : 1, 4 мл), добавляли 4 н. водный раствор аммиака до pH 8, растворители удаляли, аммониевую соль фосфатидилинозита (XI) переосаждали ацетоном (3 мл) из хлороформа (1 мл). Выход 24.9 мг (45.3%), *R_f* 0.42 (Б), т. пл. >250°C. ¹H-ЯМР (DMSO-*d*₆–CCl₄, 4 : 1, м.д.): 0.87 (т, 6H, CH₃, пальмитоил), 1.06–1.35 (м, 52H, CH₂, пальмитоил), 1.75 (м, 2H, 2 OH), 1.79 (с, 3H, 5-CH₃, Thy), 1.91 (м, 2H, 2 OH), 2.25–2.32 (м, 4H, β-CH₂, пальмитоил), 2.76–2.91 (м, 4H, (CH₂)₂, сукцинил), 3.33–3.51 (м, 6H, 5H глицерина, H5 инозита), 3.59 (д, 2 H, H5', Thy), 3.66–3.88 (м, 4 H, H2, H3, H4, H6 инозита), 3.96 (дт, 1H, H4', Thy), 4.01–4.22 (м, 1 H, H1 инозита), 6.96 (дт, 1H, H2', Thy), 7.10 (дт, H3', Thy), 8.11 (м, 1H, H1', Thy), 8.16 (с, 1H, H6, Thy), 8.19 (с, 1H, 3-NH, Thy). Масс-спектр, *m/z*: 1117.2 [*M* + H]⁺.

Работа выполнена при финансовой поддержке Международного научно-технического центра (№ проекта 1781).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Шастина Н.С., Эйнисман Л.И., Степанов А.Е., Швец В.И. // Биоорган. химия. 1996. Т. 22. С. 446–450.
2. De Clercq E. // Clin. Microbiol. Rev. 1997. V. 10. P. 674–693.
3. Siddiqui A.Q., McGuigan Ch., Ballatore C., Zuccotto F., Gilbert I.H., De Clercq E., Balzarini J. // J. Med. Chem. 1999. V. 42. P. 4122–4128.
4. Dessolin J., Galea P., Vlieghe P., Chermann J.-C., Kraus J.-L. // J. Med. Chem. 1999. V. 42. P. 229–241.
5. Водовозова Е.Л., Павлова Ю.Б., Полушкина М.А., Ржанинова А.А., Гараев М.М., Молотковский Ю.Г. // Биоорган. химия. 1996. Т. 22. С. 451–457.
6. Ряховский В.В., Малекин С.И., Носова В.М., Кусин А.В., Кругляк Ю.Л., Курочкин В.К. // Биоорган. химия. 1999. Т. 25. С. 499–504.
7. Schott H., Ludwig P.S., Immelmann A., Schwendenner R.A. // Eur. J. Med. Chem. 1999. V. 34. P. 343–352.
8. Jan S.T., Shin M.J., Venkatachalam T.K., Dcruz O.J., Chen C.L., Uckun F.M. // Antivir. Chem. and Chemotherapy. 1999. V. 10. P. 39–46.
9. Kucera G.L., Goff C.L., Iyer N., Morrisnatschke S., Ishaq K.S., Wyrick S.D., Fleming R.A., Kucera L.S. // Antivir. Res. 2001. V. 50. P. 129–137.
10. Mavromoustakos T., Calogeropoulou T., Koufaki M., Kolocouris A., Daliani I., Demetzos C., Meng Z.X., Makriyannis A., Balzarini J., De Clercq E. // J. Med. Chem. 2001. V. 44. P. 1702–1709.
11. Mitsuya H., Broder S. // Nature. 1987. V. 325. P. 773.
12. Hostetler K.Y., Stuhmiller L.M., Lenting H.B.M., van den Bosch H., Richman D.D. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. P. 6112–6117.
13. McGuigan C., Pathirana R.N., Mahmood N., Devine K.G., Hay A.J. // Antivir. Res. 1992. V. 17. P. 311–321.
14. Siddiqui A.Q., McGuigan C., Ballatore C., De Clercq E., Balzarini J. // J. Med. Chem. 1999. V. 42. P. 393–399.
15. Berezovskaya Yu., Chudinov M., Kirillova Yu., Shastina N., Shvets V., Yurkevich A. // Nucleosides Nucleotides. 1998. V. 17. P. 3777–3783.
16. Berrige M.J. // Ann. Rev. Biochem. 1987. V. 56. P. 159–193.
17. Швец В.И., Степанов А.Е., Крылова В.Н., Гулак П.В. мио-Инозит и фосфонозитиды. М.: Наука, 1987. 248 с.
18. Степанов А.Е., Швец В.И. // Биоорган. химия. 1998. Т. 24. С. 731–746.
19. Ceolotto C., Flekt W., Schorsch F.J. // Biochim. Biophys. Acta. Bio-Membr. 1996. V. 1285. P. 71–78.
20. Tremblay J.M., Helmkamp G.M., Yarbrough L.R. // J. Biol. Chem. 1996. V. 271. P. 21075–21080.
21. Klyashchitskii B.A., Shvets V.I., Preobrazhenskii N.A. // Chem. Phys. Lipids. 1969. V. 3. P. 394–400.
22. IUPAC-IUB Commission on Biochemical Nomenclature (CBN) // Eur. J. Biochem. 1967. V. 2. P. 127.
23. Замятина А.Ю., Бушнев А.С., Швец В.И. // Биоорган. химия. 1994. Т. 20. С. 1253–1295.
24. Шастина Н.С., Эйнисман Л.И., Каширичева И.И., Степанов А.Е., Швец В.И. // Биоорган. химия. 1995. Т. 21. С. 641–650.
25. Falck J.R., Krishna U.M., Katipally K.R., Capdevila J.H., Ulug E.T. // Tetrahedron Lett. 2000. V. 41. P. 4271–4275.
26. De Almedia M.V., Cleophax J., Gateau-Olesker A., Prestat G., Dubreuil D., Gero S.D. // Tetrahedron. 1999. V. 55. P. 12997–13010.
27. Lindh I., Stawinski J. // J. Org. Chem. 1989. V. 54. P. 1338–1342.
28. Shvets V.I., Klyashchitskii B.A., Stepanov A.E., Evstigneva R.P. // Tetrahedron. 1973. V. 29. P. 331.
29. Bruzik K.S., Salamonczyk G., Stec W.J. // J. Org. Chem. 1986. V. 52. P. 2368–2370.
30. Gigg J., Gigg R., Conant R. // Carbohydr. Res. 1985. V. 142. P. 132–134.

Asymmetrically Substituted *myo*-Inositols. XXXIX. The Synthesis of Conjugate of 2',3'-Didehydro-3'-dehydroxythymidine with Phosphatidylinositol: A New Nucleoside Phospholipid with Potential Anti-HIV Activity

N. S. Shastina[#], O. A. Tuchnaya, L. I. Einisman, I. I. Kashiricheva, A. E. Stepanov, A. M. Yurkevich, and V. I. Shvets

[#] Phone: +7(095) 434-83-55, e-mail: biotechnology@mtu-net.ru

Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 119571 Russia

A partially protected phosphatidylinositol with a free hydroxyl group in the cyclitol moiety was synthesized by phosphorylation of a tetrasubstituted *myo*-inositol using the *H*-phosphonate and phosphoamidite methods. The *H*-phosphonate method was advantageous for the synthesis of selectively protected monophosphoinositide due to a lesser number of stages. Two schemes for the conjugation of 2',3'-didehydro-3'-dehydroxythymidine with phosphatidylinositol using succinic acid as a linker were tested in the synthesis of the target nucleoside phospholipid. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2003, vol. 29, no. 3; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: *myo*-inositol, phosphatidylinositol, *H*-phosphonate method, 2',3'-didehydro-3'-deoxythymidine, phosphoamidite method