



УДК 577.113.3

СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ ИМИДОДИФОСФОРНОЙ КИСЛОТЫ, ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ СУБСТРАТОВ В РЕАКЦИИ ПИРОФОСФОРОЛИЗА

© 2005 г. Н. Ф. Закирова[#], Н. А. Голубева, А. В. Шипицын, Л. А. Александрова

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

119991, Москва, ул. Вавилова, 32

Поступила в редакцию 24.11.2003 г. Принята к печати 06.02.2004 г.

Оптимизирована реакция получения трихлорфосфазофосфодихлорида, с использованием которого были синтезированы эфиры имидодифосфорной кислоты. В результате взаимодействия трихлорфосфазофосфодихлорида с аминами вместо ожидаемых амидов имидодифосфорной кислоты были выделены соответствующие амидофосфаты.

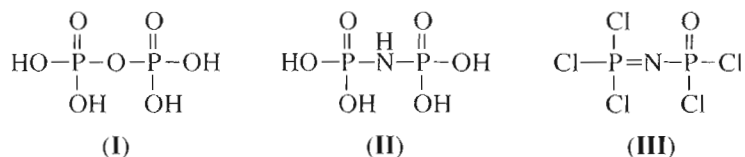
Ключевые слова: трихлорфосфазофосфодихлорид; имидодифосфорная кислота, фосфамиды, эфиры; 2-(4-нитрофенил)этанол.

ВВЕДЕНИЕ

Неорганический пирофосфат (I) является одним из ключевых соединений клеточного метаболизма. В частности, гидролиз аденозин-5'-трифосфата с образованием пирофосфата и аденозин-5'-монофосфата высвобождает энергию, необходимую для протекания всех внутриклеточных превращений. Появившаяся недавно гипотеза о существенном вкладе пирофосфоролиза (реакции отщепления концевого аналога нуклеозида от растущей цепи ДНК под действием пирофосфата, а также нуклеозидди- или трифосфата) в

возникновении резистентности вируса иммунодефицита человека (ВИЧ) к антивирусным препаратам, в частности к 3'-дезоксиде-3'-азидотимидину и 3'-дезокситимидину, повысила интерес исследователей к синтезу аналогов неорганического пирофосфата [1–3].

Неорганический пирофосфат (I) и имидодифосфорная кислота (II) близки по своим структурным параметрам: валентные углы и расстояния между атомами фосфора составляют 128.7° и 2.94 Å (для соединения (I)) и 127.2° и 3.005 Å (для соединения (II)). Более того, близки константы диссоциации обоих соединений [4, 5].



Имидодифосфорная кислота (II) является субстратом как прокариотической пирофосфатазы из *E. coli* [6, 7], так и эукариотической пирофосфатазы из бычьей печени [8, 9]. Кроме того, было показано, что кислота (II) может заменять неорганический пирофосфат в реакции пирофосфоролиза, катализируемой обратной транскриптазой (ОТ) вируса миелобластома птиц и рядом ДНК-полимераз [10], а также ингибировать δ -аденозилметионинсинтетазу [11].

При исследовании свойств аналогов нуклеозид-5'-трифосфатов, содержащих остаток имидодифосфорной кислоты, показано, что замена фосфоангидридной связи в P^{α} - P^{β} -фрагменте молекул тимидин-5'-трифосфата и 3'-азидо-3'-дезокситимидин-5'-трифосфата на фосфамидную связь приводила к возникновению у полученных соединений способности к ингибированию ОТ ВИЧ-1 [12]. Также было показано, что аденозин-5'-(α,β -имидо)трифосфат является ингибитором некоторых РНК-полимераз, в частности РНК-полимеразы бактериофага T7 [13].

Таким образом, имидодифосфорная кислота (II) и ее производные являются полезными инструментами в изучении метаболизма нуклеиновых кис-

Сокращения: ВИЧ – вирус иммунодефицита человека; ОТ – обратная транскриптаза.

[#] Автор для переписки (тел.: (095) 135-60-65; эл. почта: lhba@genome.eimb.relam.ru).

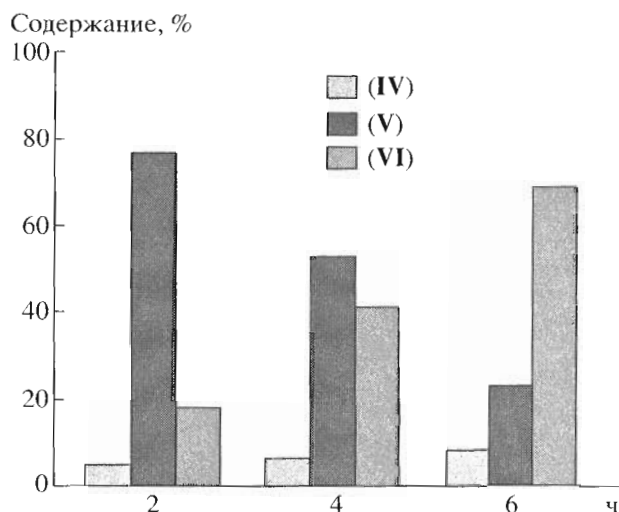


Рис. 1. Состав смеси продуктов реакции 2-(4-нитрофенил)этанола с реакционной смесью А (PCl_5 + $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ + $\text{CCl}_2\text{HCCl}_2\text{H}$, кипячение 2, 4 и 6 ч), проводимой в течение 16 ч при комнатной температуре.

ного при замене гидросиламина на сульфат аммония [15].

При воспроизведении литературных условий получения хлорангидрида (III), описанных в работе [15], а именно кипячение пентахлорида фосфора с сульфатом аммония в 1,1,2,2-тетрахлорэтано (реакционная смесь А) в течение 1 ч с последующей отгонкой продукта при пониженном давлении, выход реагента (III) составил только 30%, что не соответствует литературным данным. В связи с этим нам показалось важным идентифицировать продукты, образующиеся в этой реакции. Для этого в процессе кипячения через 2, 4 и 6 ч отбирали пробы, которые анализировали с помощью ^{31}P -ЯМР-спектроскопии. Поскольку ^{31}P -ЯМР-спектры этих проб представляли собой сложный, трудно интерпретируемый набор сигналов, для исследования продуктов реакции мы использовали косвенный метод. В каждой из отобранных проб мы удаляли 1,1,2,2-тетрахлорэтан, и остаток без дополнительной очистки вводили в реакцию с 2-(4-нитрофенил)этанолом в триэтилфосфате при комнатной температуре. Через 16 ч реакционную смесь нейтрализовали охлажденным до 4°C насыщенным раствором NaHCO_3 , экстрагировали эфиром, триэтилфосфат и непрореагировавший спирт, и полученную смесь хроматографировали на колонках с ионообменной смолой DEAE-Sephadex. Такая очистка позволила нам отделиться от основной части имидодифосфорной кислоты, образующейся в процессе нейтрализации реакционных смесей. Состав смеси продуктов реакций (рис. 1) определяли по данным ^{31}P -ЯМР-спектроскопии (рис. 2).

лот. В данной работе нами был синтезирован ряд эфиров имидодифосфорной кислоты для дальнейшего изучения их действия в реакциях, катализируемых ДНК-полимеразами.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

Одним из наиболее удобных реагентов для получения производных имидодифосфорной кислоты (II) является трихлорфосфазофосфодихлорид (III). Его синтез с выходом около 50% из пентахлорида фосфора и гидросиламина был впервые описан в 1963 г. [14]. Позднее было показано, что выход хлорангидрида (III) повышается до количествен-

С помощью ионообменной хроматографии были получены фракции, содержащие 2-(4-нитрофенил)этиловый эфир фосфамида (IV), 2-(4-нитрофе-

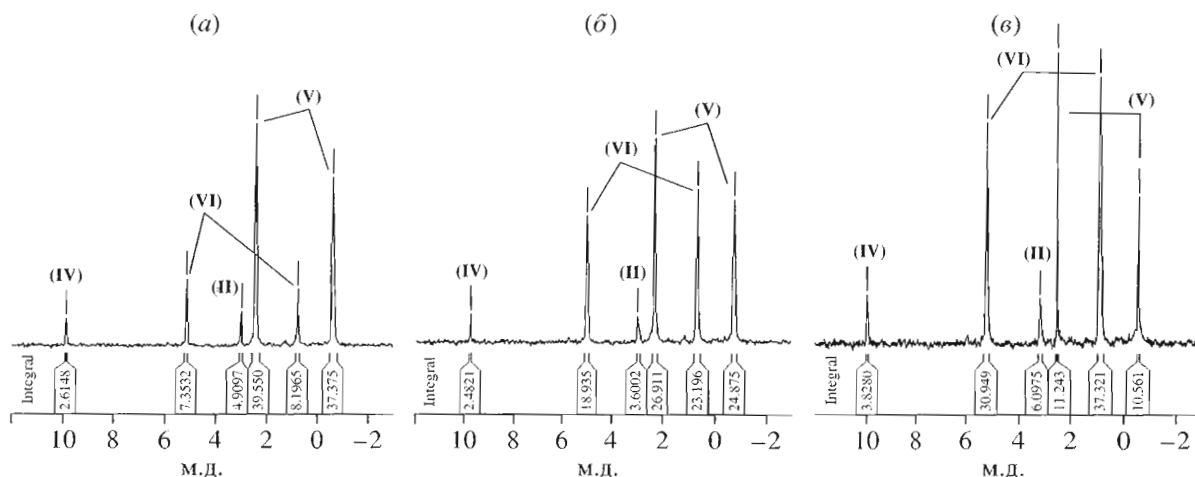
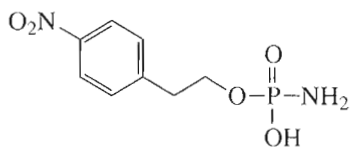
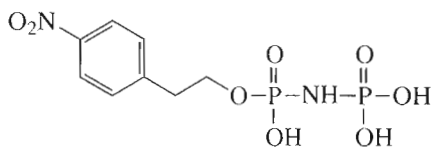


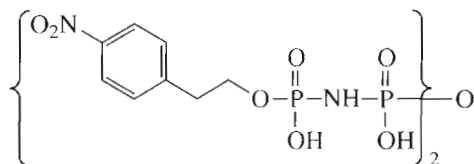
Рис. 2. ^{31}P -ЯМР-спектры продуктов реакции 2-(4-нитрофенил)этанола с реакционной смесью А (16 ч, 20°C) при получении смеси А кипячением $(\text{NH}_4)_2\text{SO}_4$ с PCl_5 в течение 2 (а), 4 (б) и 6 ч (в). Спектр зарегистрирован после первичной очистки на DEAE-Sephadex.



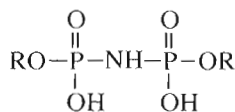
(IV)



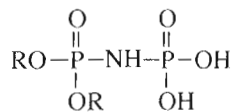
(V)



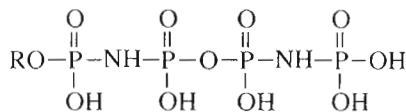
(VI)



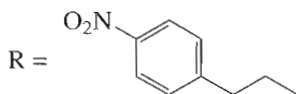
(VII)



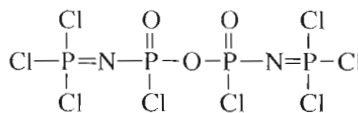
(VIII)



(IX)



R =



(X)

нил)этиловый эфир имидодифосфорной кислоты (V) и его димер, P^{α}, P^{α} -бис[2-(4-нитрофенил)этил]- $P^{\alpha}, P^{\beta}, P^{\alpha}, P^{\beta}$ -диимидотетрафосфат (VI).

При обработке смеси А 2-(4-нитрофенил)этанолом теоретически могли бы образовываться и другие соединения, такие, как симметричный (VII) и асимметричный (VIII) бис[2-(4-нитрофенил)этил]имидодифосфаты, а также P^{α} -[2-(4-нитрофенил)этил]- $P^{\alpha}, P^{\beta}, P^{\gamma}, P^{\delta}$ -диимидотетрафосфат (IX). Структуры дифосфата (VII) и тетрафосфата (IX) были отвергнуты после анализа ^{31}P -ЯМР-спектров, так как для этих соединений должны были наблюдаться один или четыре сигнала соответственно.

Известно, что диэфиры типа (VIII) нестабильны в щелочных условиях [16]. Поэтому мы провели щелочной гидролиз димера (VI) и эфира (V). Контроль хода гидролиза при помощи ЯМР-спектроскопии показал, что в 0.1 М КОН за сутки при комнатной температуре из димера (VI) образуется единственный продукт – моноэфир (V), с выходом приблизительно 10%; при этом его дальнейшего гидролиза в тех же условиях отмечено не было. В случае гидролиза соединения (VIII) мы

должны были получить наряду с моноэфиром (V) также и 2-(4-нитрофенил)этиловый спирт с соответствующими сигналами в ^1H -ЯМР-спектре. Поскольку этих сигналов не было зарегистрировано, можно считать, что получен именно димер (VI).

Суммируя вышеприведенные факты, мы предполагаем, что в реакции пентахлорида фосфора с сульфатом аммония наряду с целевым трихлорфосфазофосфодихлоридом (III) образуется по крайней мере еще один продукт (X), взаимодействие которого с 2-(4-нитрофенил)этанолом приводит к димеру (VI). К сожалению, выделить вещество (X) в индивидуальном виде с помощью вакуумной разгонки нам не удалось.

Таким образом, мы показали, что для получения продукта (III) из пентахлорида фосфора и сульфата аммония оптимальное время кипячения – 2 ч. Выход соединения (III) после перегонки составил около 80%, полученные физико-химические характеристики соответствуют литературным [15].

При взаимодействии реагента (III) с соответствующими спиртами были получены 2-(4-нитрофенил)этиловый (V), 3,3-дифенилпропиловый (XI) и

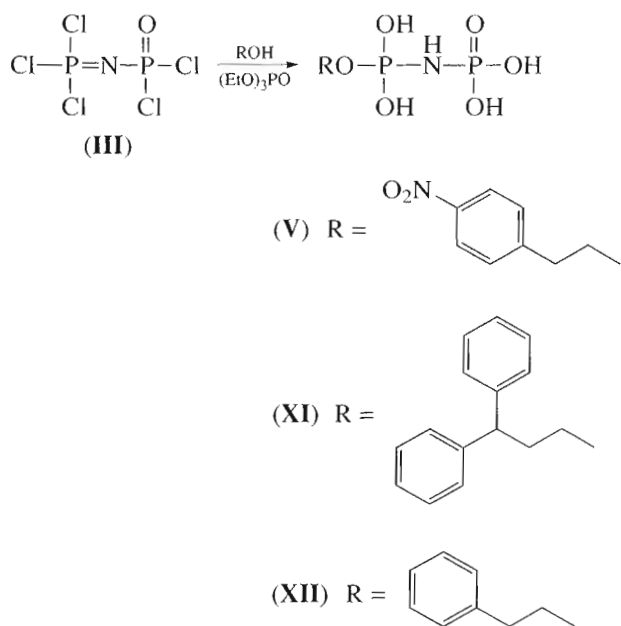


Схема 1.

2-фенилэтиловый (XII) эфиры имидодифосфорной кислоты (схема 1).

Все синтезированные соединения были охарактеризованы данными ЯМР-спектроскопии. Характерной особенностью ³¹P-ЯМР-спектров производных имидодифосфорной кислоты (V), (VI), (XI) и (XII) является отсутствие константы спин-спинового взаимодействия атомов фосфора.

Нам также представлялось интересным синтезировать нуклеозидные эфиры имидодифосфорной кислоты, в частности имидодифосфат тимидина

(XIII). Однако при взаимодействии незащищенного тимидина с хлорангидридом (III) в условиях, описанных авторами работы [12] (триэтилфосфат, 4°C, 1 ч), реакция не протекала. Единственным продуктом реакции тимидина с реагентом (III) в условиях, аналогичных получению эфиров (V), (XI) и (XII) (комнатная температура, 16 ч), был 3',5'-циклоимидодифосфат тимидина (XIV). Целевой 5'-имидодифосфат тимидина (XIII) был получен взаимодействием 3'-O-ацетилтимидина и хлорангидрида (III) с последующим удалением защитной группы 25% водным аммиаком (схема 2).

На рис. 3 приведены фрагменты ¹H-ЯМР-спектров 5'-имидодифосфата тимидина (XIII) и 3',5'-циклоимидодифосфата тимидина (XIV). Интересно отметить, что наиболее характерным различием ¹H-ЯМР-спектров этих соединений является положение сигналов протонов при C3'. Так, для имидодифосфата (XIII) эти сигналы находятся при 4.29–4.32 м. д. (рис. 3а), в то время как для циклоимидодифосфата (XIV) они сдвинуты в область слабого поля (5.5 м. д.) (рис. 3б).

Нам также представлялось интересным синтезировать амиды имидодифосфорной кислоты, в частности дифенилметиламид имидодифосфорной кислоты (XV) и 2-фенилэтиламид имидодифосфорной кислоты (XVI).

Для синтеза была использована та же методика, что и при получении эфиров (V), (XI) и (XII), с тем лишь отличием, что в реакционную смесь был добавлен дополнительно N,N-диизопропилэтиламин (схема 3).

Анализ реакционной смеси с помощью ТСХ до и после ионообменной хроматографии показал резкое различие в составе продуктов. Мы предполагаем, что наличие двух атомов азота при атоме

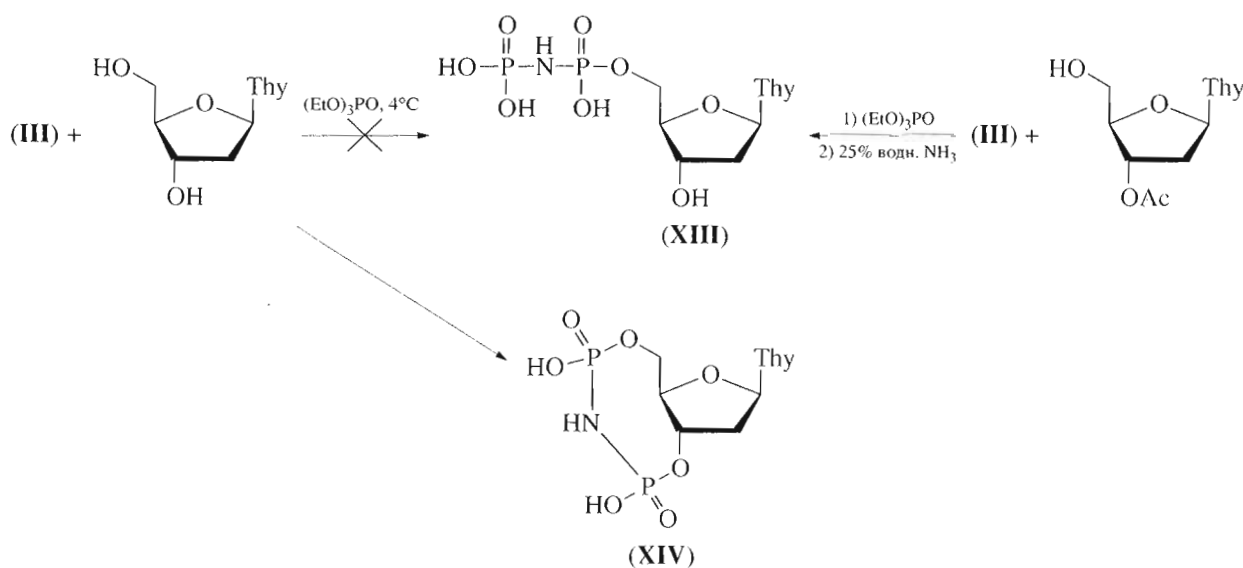


Схема 2.

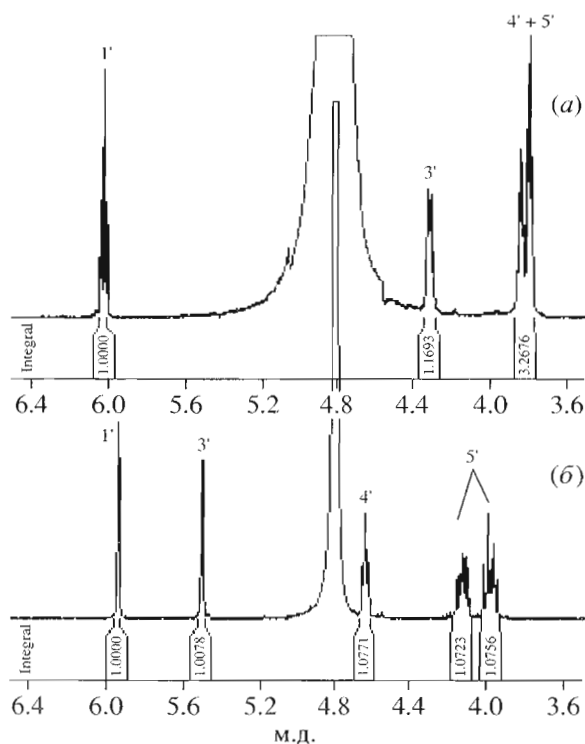


Рис. 3. Фрагменты ^1H -ЯМР-спектров: (а) – для 5'-имидодифосфата тимидина (XIII); (б) – 3',5'-циклоимидодифосфата тимидина (XIV).

фосфора обуславливает нестабильность дифосфодиамидов (XV) и (XVI), и они легко гидролизуются с образованием соответствующих фосфамидов (XVII) и (XVIII), которые и были выделены.

Таким образом, в данной работе нами была оптимизирована методика получения трихлорфосфазофосфодихлорида (III) и на его основе был синтезирован ряд эфиров имидодифосфорной кислоты. Данные по их субстратной или ингибиторной активности в реакциях, катализируемых ДНК-полимеразами, будут опубликованы позднее.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В работе были использованы 2-фенилэтиловый спирт, 2-фенилэтиламин, 2-(4-нитрофенил)этиловый спирт, тимидин, триэтилфосфат, диизопропиламин, 1,1,2-тетрахлорэтан (Fluka, Швейцария), сульфат аммония, пентахлорид фосфора (Merck, Германия), дифениламинометан, 3,3-дифенилпропиловый спирт (Aldrich, США).

Ход реакций контролировали с помощью ТСХ на пластинках Kieselgel 60F₂₅₄ (Merck, Германия) в системах (по объему): диоксан–25% водный амиак–вода, 6 : 1 : 4 (А); диоксан–25% водный амиак, 8 : 2 (Б).

Колоночную хроматографию осуществляли на анионообменных смолах DEAE-Sephadex A-25 (Pharmacia, Швеция) и DEAE-Toyopearl 650M (Tosoh Corporation, Япония) и на обращенно-фазовом силикагеле LiChroprep RP-8 (размер частиц 25–40 мкм) (Merck, Германия).

УФ-спектры регистрировали на спектрофотометре Shimadzu UV-2401 PC (США) в воде в диапазоне длин волн 200–300 нм.

ЯМР-спектры регистрировали на приборе АМХШ-400 (Bruker, США) (шкала δ , м. д., КССВ указаны в герцах) с рабочей частотой 400 МГц для ^1H -ЯМР и 162 МГц для ^{31}P -ЯМР при температуре 27°C (с подавлением спин-спинового фосфор-протонного взаимодействия, внешний стандарт – 85% фосфорная кислота).

Трихлорфосфазофосфодихлорид (III). Пентахлорид фосфора (62.4 г, 0.30 моль) и сульфат аммония (8.7 г, 0.07 моль) суспендировали в 1,1,2,2-тетрахлорэтаноле (90 мл), смесь кипятили 2 ч. Полученную суспензию фильтровали и упаривали. Остаток перегоняли в вакууме. Выход 63 г (78%). $T_{\text{пл}}$ 30–33°C, $T_{\text{кип}}$ 95–97°C (0.1 мм рт. ст.). ^{31}P -ЯМР (CDCl_3): –0.88 (1 P, уш. с); –1.05 (1 P, уш. с).

2-(4-Нитрофенил)этиловый эфир имидодифосфорной кислоты, аммониевая соль (V) (типичная методика). К раствору 2-(4-нитрофенил)этанола (0.49 г, 3.0 ммоль) в триэтилфосфате (10 мл),

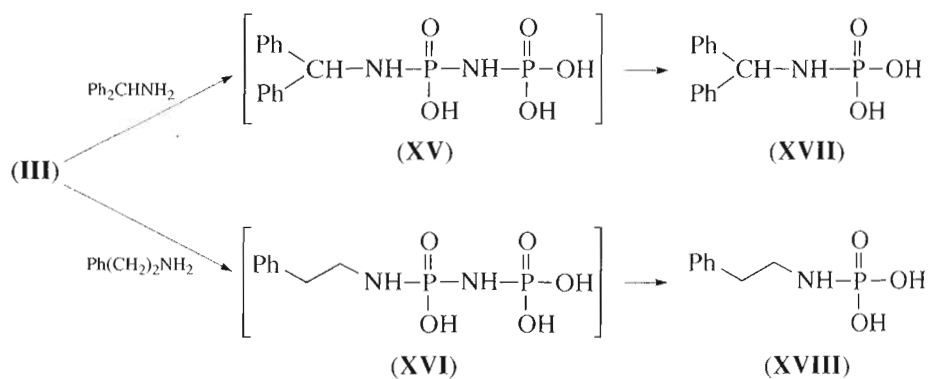


Схема 3.

охлажденному до -4°C , добавили реагент (III) (1.6 г, 6.0 ммоль). Реакционную смесь выдерживали 16 ч при комнатной температуре, нейтрализовали охлажденным до 4°C водным раствором NaHCO_3 (50 мл) и экстрагировали эфиром. Водную фракцию хроматографировали на колонке с DEAE-Sephadex (50×450 мм), элюировали в линейном градиенте концентрации NH_4HCO_3 ($0 \rightarrow 0.5$ М, 1 л) в 10% водном метаноле. Полученные фракции объединяли, упаривали, остаток упаривали с водой (5×50 мл) и подвергали повторной очистке на колонке с LiChroprep RP-8 (25×270 мм). Элюировали в линейном градиенте концентрации ацетонитрила ($0 \rightarrow 50\%$, 1 л) в 0.05 М водном растворе NH_4HCO_3 . Целевую фракцию упаривали и лиофилизировали из воды. Выход 0.51 г (48%). R_f 0.31 (А). УФ-спектр (H_2O): λ_{max} 289 нм (ϵ 11700). ^1H -ЯМР (D_2O): 8.17 (2 Н, д, J 7.4, m -Ph); 7.61 (2 Н, д, J 7.4, o -Ph); 4.02 (2 Н, м, CH_2O); 2.89 (2 Н, т, J 6.4, PhCH_2). ^{31}P -ЯМР (D_2O): 2.49 (1 P, с, P^{α}); -0.62 (1 P, с, P^{β}).

$P^{\alpha}, P^{\alpha'}$ -Бис[2-(4-нитрофенил)этил]- $P^{\alpha}, P^{\beta}, P^{\alpha'}$ - $P^{\beta'}$ -димиidotетрафосфат, аммониевая соль (VI). К раствору 2-(4-нитрофенил)этанола (49 мг, 0.3 ммоль) в триэтилфосфате (2 мл), охлажденному до -4°C , добавили реакционную смесь А (6 ч кипячения, 0.6 ммоль, считая на пентахлорид фосфора). Реакционную смесь выдерживали 16 ч при комнатной температуре, нейтрализовали охлажденным до 4°C водным раствором NaHCO_3 (7 мл) и экстрагировали эфиром. Водную фракцию хроматографировали на колонке с DEAE-Sephadex (20×250 мм), элюировали в линейном градиенте концентрации NH_4HCO_3 ($0 \rightarrow 0.5$ М, 600 мл) в 10% водном метаноле. Целевую фракцию упаривали, остаток упаривали с водой (5×50 мл) и подвергали повторной очистке на колонке с LiChroprep RP-8 (25×270 мм). Элюировали в линейном градиенте концентрации ацетонитрила ($0 \rightarrow 50\%$, 600 мл) в 0.05 М водном растворе NH_4HCO_3 . Элюат упаривали и лиофилизировали из воды. Выход 38 мг (36%). R_f 0.55 (А). УФ-спектр (H_2O): λ_{max} 289 нм (ϵ 23400). ^1H -ЯМР (D_2O): 8.12 (2 Н, д, J 7.4, m -Ph); 7.42 (2 Н, д, J 7.4, o -Ph); 3.87 (2 Н, м, CH_2O); 2.94 (2 Н, т, J 6.4, PhCH_2). ^{31}P -ЯМР (D_2O): 5.05 (1 P, с, P^{α}); 0.72 (1 P, с, P^{β}).

3,3-Дифенилпропиловый эфир имидодифосфорной кислоты, аммониевую соль (XI) получали из 3,3-дифенилпропанола (62 мг, 0.3 ммоль, раствор в 3 мл триэтилфосфата) и реагента (III) (161 мг, 0.60 ммоль) по методике, описанной для получения эфира (V). После хроматографии на колонке с DEAE-Sephadex (30×250 мм) целевую фракцию очищали на колонке с LiChroprep RP-8 (15×140 мм). Целевую фракцию упаривали и лиофилизировали из воды. Выход 30 мг (25%). R_f 0.23 (А). ^1H -ЯМР (D_2O): 7.02–7.19 (10 Н, м, Ph); 4.02 (1 Н, т, J 7.8, CH); 3.63 (2 Н, м, J 6.7, CH_2O); 2.25 (2 Н, м, J 7.2, CH_2CH). ^{31}P -ЯМР (D_2O): -0.8 (1 P, с, P^{α}); 0.7 (1 P, с, P^{β}).

2-Фенилэтиловый эфир имидодифосфорной кислоты, аммониевую соль (XII) получали из 2-фенилэтанола (49 мг, 0.4 ммоль, раствор в 3 мл триэтилфосфата) и реагента (III) (215 мг, 0.80 ммоль) по типовой методике. После хроматографии на колонке с DEAE-Sephadex (20×110 мм) повторную очистку осуществляли на колонке с LiChroprep RP-8 (15×140 мм). Целевую фракцию упаривали и лиофилизировали из воды. Выход 39 мг (31%). R_f 0.28 (А). ^1H -ЯМР (D_2O): 6.97–7.01 (5 Н, м, Ph); 3.84 (2 Н, м, J 7.2, CH_2O); 2.73 (2 Н, т, J 7.2, PhCH_2). ^{31}P -ЯМР (D_2O): -0.67 (1 P, с, P^{α}); 1.46 (1 P, с, P^{β}).

5'-Имидодифосфат тимидина, аммониевую соль (XIII) получали по типовой методике из 3'- O -ацетилтимидина (100 мг, 0.35 ммоль, раствор в 3 мл триэтилфосфата) и реагента (III) (190 мг, 0.70 ммоль). После хроматографии на колонке с DEAE-Sephadex (30×250 мм) целевую фракцию упаривали, защитную группу деблокировали 25% водным аммиаком в течение 16 ч при 37°C . Реакционную смесь упаривали, остаток упаривали с водой (5×30 мл) и хроматографировали на DEAE-Toyopearl (20×170 мм), элюировали в линейном градиенте концентрации NH_4HCO_3 ($0 \rightarrow 0.3$ М, 1 л). Целевую фракцию упаривали, остаток упаривали с водой (5×30 мл) и повторно очищали на ионообменной смоле DEAE-Toyopearl (20×170 мм). Элюировали в линейном градиенте концентраций NH_4HCO_3 ($0.1 \rightarrow 0.25$ М, 1 л). Целевую фракцию упаривали и лиофилизировали из воды. Выход 47 мг (31%). R_f 0.21 (А). УФ-спектр (H_2O): λ_{max} 267 нм (ϵ 9400). ^1H -ЯМР (D_2O): 7.38 (1 Н, с, H6); 6.02 (1 Н, т, J 6.6, H1'); 4.29–4.33 (1 Н, м, H3'); 3.79–3.85 (3 Н, м, H4', H5'); 2.04–2.17 (2 Н, м, H2'); 1.62 (3 Н, с, 5- CH_3). ^{31}P -ЯМР (D_2O): -0.95 (1 P, с, P^{α}); 2.43 (1 P, с, P^{β}).

3',5'-Циклоимидодифосфат тимидина, аммониевую соль (XIV). К раствору тимидина (100 мг, 0.41 ммоль) в триэтилфосфате (3 мл), охлажденному до -4°C , добавили реагент (III) (220 мг, 0.82 ммоль). Реакционную смесь выдерживали 16 ч при комнатной температуре, нейтрализовали охлажденным до 4°C водным раствором NaHCO_3 (10 мл) и экстрагировали эфиром. Водную фракцию после экстракции эфиром хроматографировали на колонке с DEAE-Toyopearl (20×170 мм), элюировали в линейном градиенте концентрации NH_4HCO_3 ($0 \rightarrow 0.5$ М, 600 мл). Целевую фракцию упаривали, остаток упаривали с водой (5×30 мл) и повторно хроматографировали на DEAE-Toyopearl (20×170 мм), элюировали в линейном градиенте концентрации NH_4HCO_3 ($0 \rightarrow 0.25$ М, 1 л). Целевую фракцию упаривали и лиофилизировали из воды. Выход 34 мг (20%). R_f 0.26 (А). УФ-спектр (H_2O): λ_{max} 267 нм (ϵ 9300). ^1H -ЯМР (D_2O): 7.56 (1 Н, с, H6); 5.94 (1 Н, уш. с, H1'); 5.50 (1 Н, уш. д, J 2.16, H3'); 4.62–4.66 (1 Н, м, H4'); 4.10–4.16 (1 Н, м, H5'_a); 3.95–4.01 (1 Н, м, H5'_b); 2.67 (2 Н, с, H2');

1.90 (3 H, c, 5-CH₃). ³¹P-ЯМР (D₂O): -1.07 (1 P, c, P^α); 1.12 (1 P, c, P^β).

Дифенилметиламидофосфат, аммониевая соль (XVII). К раствору дифенилметиламина (74 мг, 0.4 ммоль) в триэтилфосфате (3 мл), охлажденному до -4°C, добавляли последовательно *N,N*-диизопропилэтиламин (3.2 ммоль) и реагент (III) (161 мг, 0.6 ммоль). Реакционную смесь выдерживали 18 ч при 4°C, нейтрализовали водой (10 мл) и экстрагировали эфиром. Водные фракции хроматографировали на колонках с DEAE-Sephadex (30 × 250 мм), элюировали в линейном градиенте концентраций NH₄HCO₃ (0 → 0.5 M, 600 мл) в 10% водном метаноле. Целевые фракции упаривали, остаток упаривали с водой (5 × 30 мл). Повторная хроматография на DEAE-Sephadex (20 × 110 мм) в тех же условиях позволила выделить фосфамид (XVII). Выход 24 мг (21%). *R_f* 0.72 (A), *R_f* 0.22 (B). ¹H-ЯМР (D₂O): 7.27–7.43 (10 H, м, Ph); 5.41 (1 H, д, *J* 9.3, CH). ³¹P-ЯМР (D₂O): 11.7 (1 P, c).

2-Фенилэтиламидофосфат, аммониевую соль (XVIII) получали как описано для амидофосфата (XVII) из 2-фенилэтиламина (82 мг, 0.7 ммоль, раствор в 3 мл триэтилфосфата), *N,N*-диизопропилэтиламина (5.6 ммоль) и реагента (III) (283 мг, 1.05 ммоль). После двукратной очистки на DEAE-Sephadex получали 26 мг фосфамида (XVIII) (выход 17%). *R_f* 0.76 (A), *R_f* 0.24 (B). ¹H-ЯМР (D₂O): 7.43–7.52 (5 H, м, Ph); 3.17–3.21 (2 H, м, CH₂N); 2.98 (2 H, т, *J* 6.7, PhCH₂). ³¹P-ЯМР (D₂O): 10.1 (1 P, c).

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы выражают благодарность Мозолеву А.П. за помощь в регистрации ЯМР-спектров. Работа была выполнена при финансовой поддержке РФФИ (гранты № 02-04-48951 и 03-04-06675 МАС).

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Vasikaran S.D. // Ann. Clin. Biochem. 2001. V. 38. P. 608–623.
2. Meyer P.R., Matsuura S.E., So A.G., Scott W.A. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1998. V. 95. P. 13471–13476.
3. Meyer P.R., Matsuura S.E., Schinazi R.F., Scott W.A. // Antimicrob. Agent. Chemother. 2000. V. 44. P. 3465–3472.
4. Yount R.G. // Science. 1969. V. 166. P. 1510–1511.
5. Корбридж Д. Фосфор. Основы химии, биохимии, технологии. Пер. с англ. М.: Мир, 1982. 680 с.
6. Baykov A.A., Pavlov A.R., Kasho V.N., Ayaeva S.M. // Arch. Biochem. Biophys. 1989. V. 273. P. 301–308.
7. Smirnova I.N., Baykov A.A., Ayaeva S.M. // FEBS Lett. 1986. V. 206. P. 121–124.
8. Hiraishi H., Ohmagari T., Otsuka Y., Yokoi F., Kumon A. // Arch. Biochem. Biophys. 1997. V. 341. P. 153–159.
9. Hiraishi H., Yokoi F., Kumon A. // Arch. Biochem. Biophys. 1998. V. 349. P. 381–387.
10. Розовская Т.А., Тарусова Н.Б., Минасян Ш.Х., Амражев А.М., Куханова М.К., Краевский А.А., Чиджавадзе З.Г., Бибилашвили Р.Ш. // Молекулярная биология. 1989. Т. 23. С. 862–871.
11. Reczkowski R.S., Markham G.D. // Biochem. 1999. V. 38. P. 9063–9068.
12. Ma Q.-F., Bathurst I.C., Barr P.J., Kenyon G.L. // J. Med. Chem. 1992. V. 35. P. 1938–1941.
13. Ma Q.-F., Babbitt P.C., Kenyon G.L. // J. Am. Chem. Soc. 1988. V. 110. P. 4060–4061.
14. Becke-Goehring M., Germann W., Goetze W. // Z. Anorg. Chem. 1963. V. 326. P. 127–131.
15. Emsley J., Moore J., Udy P.B. // J. Chem. Soc. (A). 1971. P. 2863–2864.
16. Nielsen M.L., Ferguson R.R., Coakley W.S. // J. Am. Chem. Soc. 1961. V. 83. P. 99–102.

The Synthesis of Imidodiphosphoric Acid Derivatives as Potential Substrates in the Pyrophosphorolysis Reaction

N. F. Zakirova[#], N. A. Golubeva, A. V. Shipitsin, and L. A. Aleksandrova

[#]Phone: +7 (095) 135-6065; e-mail: lhba@genome.eimb.relarn.ru
Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences,
ul. Vavilova 32, Moscow, 119991 Russia

The preparation conditions for dichlorophosphinylphosphorimidic trichloride were optimized. It was used in the synthesis of esters of imidodiphosphoric acid. The interaction of the trichloride with amines resulted in the corresponding amidodiphosphates rather than in the expected amides of imidodiphosphoric acid. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2005, vol. 31, no. 1; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: dichlorophosphinylphosphorimidic trichloride; imidodiphosphoric acid, esters, phosphamides; 2-(4-nitrophenyl)ethanol