



УДК 547.426.2.

КОНЬЮГАТЫ 2',3'-ДИДЕГИДРО-3'-ДЕЗОКСИТИМИДИНА С ТИМОГЕНОМ. СИНТЕЗ, АНТИ-ВИЧ-АКТИВНОСТЬ

© 1999 г. В. В. Ряховский, С. И. Малекин, В. М. Носова*,
А. В. Кисин*, Ю. Л. Кругляк#, В. К. Курочкин

Государственный научно-исследовательский институт органической химии и технологии,
111024, Москва, шоссе Энтузиастов, 23;

* Государственный научно-исследовательский институт химии
и технологии элементоорганических соединений, Москва

Поступила в редакцию 11.11.98 г. Принята к печати 25.12.98 г.

Разработан эффективный способ получения тимогена. Синтезированы конъюгаты 2',3'-дидегидро-3'-дезокситимидина (нуклеозид d4T) с тимогеном. В полученных конъюгатах нуклеозид через гидроксильную группу присоединен к карбоксильной группе либо триптофанового, либо глутаминового фрагментов тимогена. Выявлено, что конъюгат нуклеозида d4T с тимогеном (связь по триптофановому остатку тимогена) обладает высокой анти-ВИЧ-активностью, сопоставимой по антивирусному действию со свободным нуклеозидом d4T, и не обладает выраженным цитотоксическим действием. Высокую анти-ВИЧ-активность проявляет также конъюгат нуклеозида d4T с триптофаном.

Ключевые слова: нуклеозид; тимоген; иммуностимулятор; триптофан; анти-ВИЧ-активность.

В настоящее время проводятся интенсивные поиски химиотерапевтических агентов против вируса иммунодефицита человека. Наряду с разработкой принципиально новых соединений не прекращаются попытки модифицировать хорошо известные противоспидовые препараты на основе нуклеозидов AZT, d4T, ddI и др., основным недостатком которых является необходимость применения высоких доз препаратов (до 2 г в сутки), что плохо переносится многими пациентами из-за цитотоксичности нуклеозидов. Логично предположить, что гибридные молекулы нуклеозидов с различными физиологически активными природными соединениями, например липидами или пептидами [1, 2], могут обладать большей специфичностью и меньшей цитотоксичностью.

В настоящей работе описан синтез гибридных молекул эффективного противовирусного нуклеозида d4T с известным иммуоактивным дипептидом тимогеном [3, 4]. Выбор d4T как анти-ВИЧ-препарата класса нуклеозидов был обусловлен его высокой активностью и гидролитической устойчивостью.

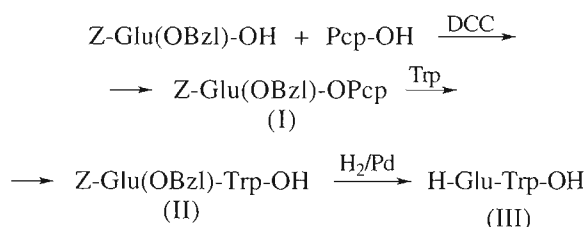
Тимоген представляет собой дипептид N-Glu-Trp-OH, выделенный с помощью ВЭЖХ из нативного препарата тимуса – тималина. В настоящее

время тимоген используется в медицинской практике в качестве иммуностимулятора (фирма "Биомед", Россия) [3]. Эффекты препарата на клеточном уровне включают в себя специфическое связывание с мембраной лимфоцита по типу лиганд-рецептор, активацию систем вторичных посредников и регуляцию функционального состояния лимфоидных клеток через cAMP-зависимые протеинкиназы [4]. Можно предположить, что нуклеозид d4T, ковалентно связанный с тимогеном, будет концентрироваться в мембранах инфицированных клеток за счет высокого сродства тимогенового фрагмента к этим мембранам. Таким образом, возможно не только снижение терапевтической дозы нуклеозидного препарата, но и приобретение конъюгатом иммуностимулирующих свойств, характерных для тимогена. Кроме того известно, что гибридные молекулы нуклеозидов с аминокислотами в меньшей степени подвергаются ферментативному гидролизу плазмой крови. Описано, что подобные гибридные молекулы проявляют значительно большую устойчивость в плазме крови, однако, легко гидролизуются клеточными ферментами. Они также обладают повышенной проницаемостью через гематоэнцефалический барьер [4].

Тимоген известен относительно давно, однако, сведения о синтезе этого соединения малодоступны [5]. Поэтому, чтобы иметь возможность использовать тимоген как стандарт при изучении физиологической активности новых соединений, нам пришлось разработать собственный метод синтеза этого соединения:

Сокращения: AZT – 3'-азидо-3'-дезокситимидин; d4T – 2',3'-дидегидро-3'-дезокситимидин; ddI – дидезоксиинозин; DMAP – N,N-диметиламинопиридин; FmOH – 9-флуоренилметанол; HOBT – N-гидроксисбензтриазол; OFm – флуоренилметоксид; HcpOH – пентахлорфенол; THF – тетрагидрофуран; Fmoc – флуоренилметилоксикарбонил.

Автор для переписки (тел.: (095) 273-87-53).



Целевой продукт (мононатриевая соль тимогена) был перекристаллизован из смеси метанол-изопропанол-вода. По данным ВЭЖХ содержание основного вещества составило более 98%. В качестве других активированных эфиров глутаминовой кислоты нами были испытаны 4-нитрофени-

ловый и пентафторфениловый эфиры. Однако применение пентахлорфенилового эфира оказалось оптимальным.

В молекуле тимогена имеются три функциональные группы и, соответственно, существует несколько вариантов связывания его с 5'-гидроксильном нуклеозида d4T. Нами синтезированы конъюгаты, в которых нуклеозид d4T, полученный по методике [6], связан с карбоксильными группами как триптофанового, так и глутаминового фрагментов тимогена – соединения (VII) и (XIII).

Продукт (VII) удобнее получать последовательным присоединением двух аминокислот к остатку нуклеозида (схема 1).

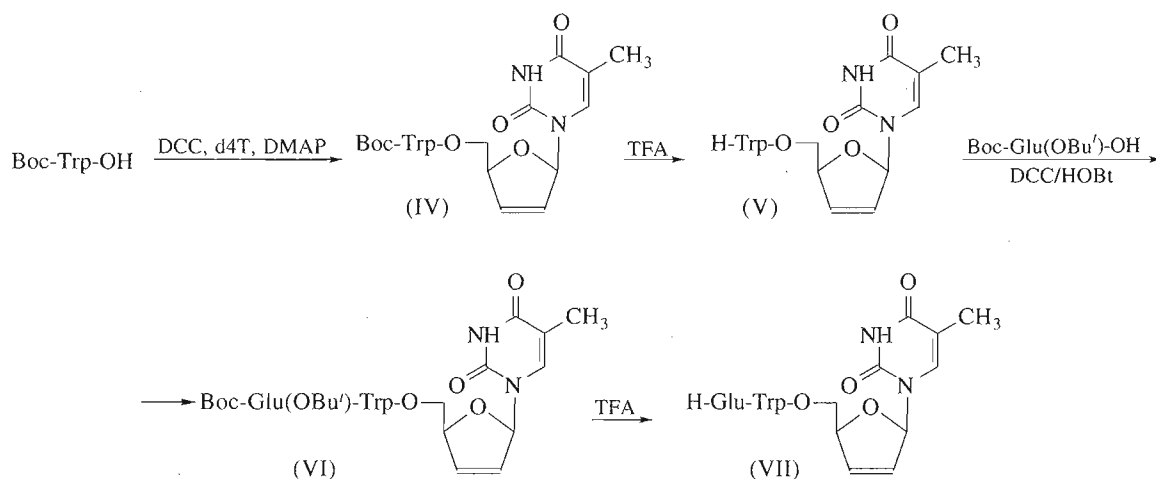


Схема 1.

Для ацилирования 5'-гидроксильной группы нуклеозида мы использовали предварительно полученный симметричный ангидрид $(\text{Boc-Trp})_2\text{O}$ в присутствии катализатора *O*-ацилирования – DMAP. При этом после снятия Boc-защиты выход эфира (V) составил 90%. Присоединение второй защищенной аминокислоты проводилось традиционным DCC-методом в присутствии HOBt. В качестве временной защиты аминогруппы использовалась *tert*-бутилоксикарбонильная группа, которая удалялась обработкой 97%-ной водной

TFA для предотвращения побочных реакций, связанных с присутствием весьма лабильного остатка триптофана. При этом гидролизовался также γ -*tert*-бутиловый эфир глутаминовой кислоты, в виде которого была защищена карбоксильная функция.

Более сложным был синтез конъюгата (XIII), где для связи с нуклеозидом d4T задействовались γ -карбоксильная группа остатка глутаминовой кислоты (схема 2).

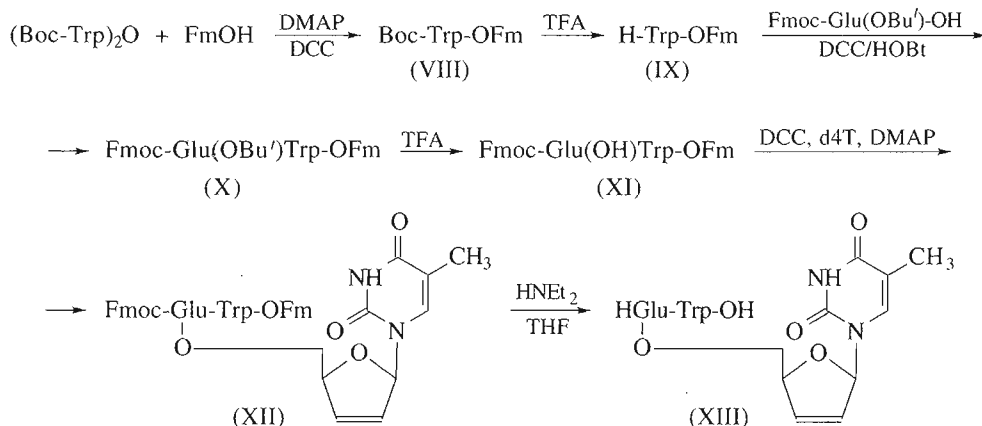


Схема 2.

Таблица 1. Параметры спектров ЯМР ¹H и ¹³C для соединений (III), d4T, (V) и (VII)

Оста-ток	Атом ^{а)}	Химические сдвиги ¹ H, δ, м. д. (J _{HH} , Гц)				Химические сдвиги ¹³ C, δ, м. д. (J _{CH} , Гц)			
		(III)	d4T	(V)	(VII)	(III)	d4T	(V)	(VII)
d4T	2 (C=O)						150.78	150.67 (8.7)	150.62
	3 (NH)		11.167	11.327	11.359				
	4 (C=O)						163.83	163.70	163.67
	5						108.99	109.69	д)
	6		7.614	7.051 к (1.1)	7.114		136.70 (179.6)	135.55	135.40
	7 (CH ₃)		1.729	1.762 д (1.1)	1.692		12.03 (128.56)	12.02 (128.3)	11.98
	1'		6.813	6.749	6.749		88.97 (170.03)	89.38 (170.9)	89.18
	2'		5.895	5.814 д (6.1)	5.788		125.90 (175.2)	124.86	126.42
	3'		6.383	5.970 д (6.1)	5.956		134.889 (172)	132.82	132.93
	4'		4.770	4.864 м	4.880		87.27 (148.27)	82.83 (152.7)	83.12
	5a'		3.605	4.272 д (12.0)	4.168		62.35 (142.1)	66.38 (149.8, 153.2)	65.62
	5б'		3.605	4.134 д (12.0)	4.151				
5'-OH		4.940							
Грр	NH ₂	8.008		8.440	9.005				
	C=O					б)		169.31	171.44
	(CH) ^α	4.219		4.094 т	4.566	54.77		52.96 (147.8)	53.52
	(CH ₂) ^β	3.002, 3.196		3.319 д, 3.236 д	3.138, 3.184	27.84		26.36 (131.9, 134.1)	27.10
	1''(NH)	10.766		11.046 д (2.0)	10.963				
	2''	7.094		7.233 д (2.0)	7.208	120.40		124.86	121.13
	3''					в)		106.26	е)
	4''	7.518		7.476	7.467	г)		117.77	ж)
	5''	6.609		6.985	6.971	123.33		118.64	123.92
	6''	6.997		7.097	7.081	г)		121.25	ж)
7''	7.275		7.395	7.372	в)		111.60	е)	
8''					135.94		136.32	136.25	
9''					128.01		126.84	126.92	
Glu	NH ₂				8.156				
	C=O					б)			168.51
	(CH) ^α	3.284			3.867				51.36
	(CH ₂) ^β	1.792			1.968	д)			26.46
	(CH ₂) ^γ	1.616, 2.222			2.367	д)			28.86
(C=O) ^δ					б)			173.29	

Примечания: д – дублет, к – квартет, м – мультиплет, т – триплет. а) Атомы рибозного фрагмента помечены штрихом, индольного – двойным штрихом. Сигналы внутри каждой из групп: б) 172.19, 174.10, 175.37; в) 111.03, 111.40; г) 117.84, 118.59; д) 30.10, 32.67; е) 108.75, 109.71, 111.51; ж) 117.75, 118.49 не отнесены.

Предварительно был получен полностью защищенный дипептид (X). Здесь аминогруппа Glu была блокирована Fmoc-защитой, карбоксильная группа остатка Грр – флуоренилметильной, γ-карбоксил глутаминовой кислоты – *трет*-бутильной защитой. Дипептид был получен DCC/NOBt-методом. После освобождения γ-карбоксильной группы остатка Glu в дипептиде (X) последний также

превращался в симметричный ангидрид, которым и ацилировался остаток нуклеозида d4T. На последней стадии Fmoc- и OFm-группы удалялись действием 10%-го раствора диэтиламина в THF.

Чистота конечных соединений с помощью препаративной ВЭЖХ была доведена до 97–98%. Структуры целевых соединений (III), (V) и (VII)

Таблица 2. Измерения ЯЭО для соединений d4Т и (V)

Облучаемое ядро	ЯЭО, % (наблюдаемый протон)	
	d4Т	(V)
6	2.2 (1'), 4.0 (2'), 7.3 (CH ₃ -7)	4.3 (CH ₃ -7), 3.1 (2'), 1.2 (1')
1'	9.0 (2'), 2.0 (4')	
2'	3.8 (6), 12.4 (1'), 6.9 (3')	
3'	13.5 (2'), 6.9 (4')	
4'	4.3 (1'), 8.3 (3'), 6.6 (5a', 5b')	4.6 (3'), 2.3 (5a'), 0.7 (1')
7-(CH ₃)	4.5 (6)	
5b' и (CH) _{Тгр}		6.6 (5a'), 1.2 (3')
2"		4.0 (NH-1")
4"		5.9 (5")
5"		4.8 (4"), 1.0 (6")
7"		5.5 (6"), 1.4 (NH-1")

Таблица 3. Анти-ВИЧ-активность синтезированных соединений

номер	Соединение		Концентрация, вызывающая 100% ингибирование репродукции ВИЧ-1, мкг/мл
	структура	название	
(III)		тимоген	50
(V)			0.1
(VII)			0.7
(XIII)			>10
Вещество для сравнения		нуклеозид d4Т	0.5

подтверждены данными спектров ¹H- и ¹³C-ЯМР (табл. 1 и 2). Отнесение протонных сигналов выполнено путем анализа мультиплетности спектров ПМР, экспериментов по наблюдению ядерного эффекта Оверхаузера (ЯЭО) [7, 8], а также с помощью 2D-спектров COSY. Сигналы ядер углерода отнесены по мультиплетности в спектрах

монорезонанса ¹³C и с использованием методики селективного двойного резонанса ¹³C-¹H [9].

Данные по анти-ВИЧ-активности синтезированных соединений (III), (V), (VII), (XIII) показали, что тимоген (III) и его конъюгат (XIII), где связь с нуклеозидом d4Т осуществлена через Glu-фрагмент, малоактивны (табл. 3). Напротив, конъюгат тимогена (VII), соединенный с нуклеозидом через карбоксильную группу Тгр является высокоактивным соединением. Столь же активен и конъюгат нуклеозида d4Т с триптофаном (V). Эти соединения в опытах *in vitro* вызывают 100%-ное ингибирование репродукции ВИЧ-1 в концентрациях 0.1–0.7 мкг/мл, что примерно соответствует уровню анти-ВИЧ-активности свободного нуклеозида d4Т (0.5 мкг/мл). Оба конъюгата не обладают цитотоксичностью в концентрациях до 100 мкг/мл (предел наблюдений) в отношении клеток человека МТ4. Эти предварительные данные свидетельствуют о целесообразности дальнейшего поиска анти-ВИЧ-препаратов в ряду нуклеозидов, модифицированных аминокислотами или пептидами.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

В синтезе использовали аминокислотные производные (Fluka, Швейцария и Reanal, Венгрия), пентахлорфенол, DCC, DMAP, флуоренилметанол, трифторуксусную кислоту, *N*-гидроксибензотриазол (Fluka, Швейцария); растворители отечественного производства марок "ч" и "х. ч." без дополнительной очистки, за исключением ТНФ, который перегонялся над алюмогидридом лития.

Спектры ЯМР ¹H и ¹³C измерены на импульсном Фурье-спектрометре АМ-360 (Bruker) для растворов в DMSO-*d*₆ при температуре 305 К. Внутренний стандарт для ядер ¹H и ¹³C – тетраметилсилан.

ТСХ осуществляли на пластинках Kieselgel 60 (Merck, Германия) в системах растворителей: хлороформ–метанол–уксусная кислота, 9 : 1 : 0.1 (А); *n*-бутанол–уксусная кислота–вода, 4 : 1 : 1 (Б); гексан–этилацетат, 4 : 1 (В); хлороформ–метанол–уксусная кислота–вода, 65 : 25 : 5 : 3 (Г). Обнаружение пятен проводили раствором толидина в водной уксусной кислоте после предварительной обработки пластинки хлором.

Аналитическую и препаративную ВЭЖХ проводили на хроматографе Gilson (Франция). Для анализов использовали колонку (0.46 × 25 см) Zorbax TMS, Du Pont Instruments (США), для очистки соединений – колонку (3 × 20 см) собственной набивки с сорбентом Silasorb C8 с размером частиц 5 мкм. В обоих случаях проводили градиентную элюцию от 0 до 30% ацетонитрила в 0.1% TFA со скоростью 1.5 и 10 мл/мин для аналитической и препаративной колонок соответственно. Детектирование осуществляли при 230 нм.

Z-Glu(OBzl)-OPcp (I). К раствору 27.4 г (73.8 ммоль) Z-Glu(OBzl)-ОН и 19.6 г (73.8 ммоль) пентахлорфенола в 270 мл хлористого метилена при 0–5°C прибавляли 15.2 г (73.8 ммоль) DCC. Реакционную массу оставляли на ночь при 0°C. Отделяли осадок *N,N'*-дициклогексилмочевины. Фильтрат упаривали. Остаток перекристаллизовывали из смеси этилацетат–гексан, сушили на воздухе. Выход 37.5 г (82%), R_f 0.4 (B).

Z-Glu(OBzl)-Trp-ONa (II-Na). К раствору 35.5 г (57.3 ммоль) пентахлорфенилового эфира (I) в 180 мл DMF присыпали 11.6 г (57 ммоль) триптофана и оставляли при перемешивании до образования прозрачного раствора (48 ч). Упаривали DMF. Остаток обрабатывали раствором 20 г бикарбоната натрия в 450 мл воды. Закристаллизовавшийся продукт (II-Na) отфильтровывали, промывали водой, растирали с эфиром, снова фильтровали и сушили на воздухе. Выход 29 г (88.3%), R_f 0.58 (A).

H-Glu-Trp-ONa (III-Na). 29 г (50 ммоль) натриевой соли (II) растворяли в смеси 270 мл метанола и 30 мл воды, добавляли 200 мг водной пасты гидроокиси палладия и при перемешивании пропускали ток водорода в течение 17 ч. Раствор фильтровали. Фильтрат упаривали до объема 60–80 мл и добавляли 350 мл изопропилового спирта. Оставляли суспензию на ночь при 0°C. Отфильтровывали осадок и сушили на воздухе. Выход 14 г (74%). R_f 0.27 (B). Чистота > 98% (по данным ВЭЖХ) (табл. 1).

2',3'-Дидегидро-3'-дезоксигуанидин-5'-(*N*-трет-бутил-оксикарбонилтриптофил)тимидин (IV). К раствору 0.304 г (1 ммоль) Вос-Trp-ОН в 5 мл THF, охлажденному до 0°C, присыпали при перемешивании 0.103 г (0.5 ммоль) DCC. Выдерживали реакционную массу 1 ч и фильтровали ее в колбу, содержащую 0.102 г (0.455 ммоль) d4T и 6 мг (0.05 ммоль) DMAp. Перемешивали до получения гомогенного раствора и оставляли на ночь при 20°C. Упаривали растворитель. Остаток растворяли в 15 мл этилацетата, фильтровали и промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия (2 × 10 мл) и водой (5 мл). Органическую фазу сушили над сульфатом магния и упаривали. Остаток (масло) кристаллизовали растиранием с гексаном. Выход соединения (IV) 0.21 г (90.5%), R_f 0.65 (A).

Трифторацетат 2',3'-дидегидро-3'-дезоксигуанидин-5'-триптофилтиимидина (V). Раствор 0.21 г (0.42 ммоль) соединения (IV) в 1 мл 97% TFA выдерживали 10 мин при 20°C и высаживали 20 мл сухого диэтилового эфира. Фильтровали осадок и сушили в вакууме. Выход 0.18 г (89%). R_f 0.6 (Г), R_f 0.56 (Б). $[\alpha]_D^{20} -3^\circ$ (с 0.5, метанол). Данные ЯМР см. табл. 1.

2',3'-Дидегидро-3'-дезоксигуанидин-5'-(*N*-трет-бутил-оксикарбонил-*O*-γ-трет-бутилглутамилтрипто-

фил)тимидин (VI). К раствору 0.121 г (0.4 ммоль) Вос-Glu(OBu')-ОН и 0.61 г НОВт (0.4 ммоль) в 4 мл THF, охлажденному до 0°C, добавляли 0.078 г (0.38 ммоль) DCC. Выдерживали 1 ч при 0–5°C и фильтровали реакционную массу в колбу с раствором 0.2 г (0.38 ммоль) соединения (V) в 4 мл DMF с добавкой 0.066 мл (0.6 ммоль) *N*-метилморфолина. Через 17 ч реакционную массу упаривали. Остаток кристаллизовали растиранием с водой, фильтровали и растворяли в 10 мл этилацетата, который промывали 2.5 мл 10% лимонной кислоты, 2.5 мл воды, 5% NaHCO₃ (2 × 5 мл) и снова 5 мл воды. Органическую фазу сушили над сульфатом магния и упаривали. Выход 0.27 г (сухая пена). R_f 0.57 (A).

2',3'-Дидегидро-3'-дезоксигуанидин-5'-(*N*-трет-бутил-оксикарбонилтриптофил)тимидин (VII). Раствор 0.27 г (0.39 ммоль) соединения (VI) в 1 мл 97% TFA выдерживали 30 мин при комнатной температуре и высаживали продукт сухим эфиром. Фильтровали, промывали эфиром и сушили осадок. Очищали препаративной ВЭЖХ. Выход 0.1 г (лиофилизат). R_f 0.48 (Б), R_f 4.21. Данные ЯМР см. табл. 1.

Флуоренилметилловый эфир *N*-третбутоксикарбонилтриптофана (VIII) получали из 0.91 г (3 ммоль) Вос-Trp-ОН и 0.27 г (1.36 ммоль) флуоренилметанола как описано для соединения (IV). Дополнительно очищали вещество хроматографией на силикагеле, элюируя сначала системой гексан – этилацетат (9 : 1) и затем этилацетатом. Выход соединения (VIII) 0.6 г (91%). R_f 0.83 (A).

Флуоренилметилловый эфир триптофана, трифторацетат (IX-TFA). Раствор 0.6 г (1.24 ммоль) Вос-Trp-OFm в 4 мл 97% TFA выдерживали 30 мин и добавляли 60 мл системы гексан–эфир, 2 : 1. Осадок отфильтровывали и сушили в вакууме над пятиокисью фосфора и гидроокисью натрия. Выход 0.42 г (68%), R_f 0.18 (A).

***N*-Флуоренилметоксикарбонил-γ-*O*-третбутил-глутамилтриптофан флуоренилметилловый эфир (X).** К раствору 0.41 г (0.92 ммоль) Fmoc-Glu(OBu')-ОН · H₂O, 0.42 г (0.84 ммоль) трифторацетата (IX-TFA) и 0.15 г (1 ммоль) НОВт · H₂O в 11 мл THF добавляли 0.19 мл (1.7 ммоль) *N*-метилморфолина, охлаждали до 0°C и присыпали 0.18 г (0.88 ммоль) DCC. Выдерживали реакционную массу 3 ч при 0°C и отфильтровывали выпавший осадок. Фильтрат упаривали. Остаток растворяли в эфире и последовательно фильтровали через 10 г окиси алюминия и 10 г силикагеля. Эфирный раствор упаривали. Выход вещества (X) 0.6 г (74%) (сухая пена). R_f 0.78 (A).

***N*-Флуоренилметилоксикарбонил-α-глутамилтриптофан флуоренилметилловый эфир (XI)** получали из 0.6 г (0.74 ммоль) соединения (X) как описано для трифторацетата (VII). Выход 0.45 г (80.6%). R_f 0.65 (A).

N-Флуоренилметилоксикарбонил- γ -(3'-деокси-2',3'-дидегидротимидил)глутамилтриптофан, α -флуоренилметилловый эфир (XII) получали из 0.45 г (0.60 ммоль) соединения (XI), 0.061 г (0.3 ммоль) DCC и 0.09 г (0.40 ммоль) d4T как описано для вещества (VI). Дополнительно вещество очищали фильтрацией через слой окиси алюминия в системе хлороформ – метанол (9 : 1). Выход 0.18 г (62.7%). R_f 0.69 (A).

γ -(2',3'-Дидегидро-3'-дезокситимидил)глутамилтриптофан (XIII). К раствору 0.18 г (0.19 ммоль) соединения (XII) в 5 мл THF добавляли 1 мл диэтиламина. Через 10 мин растворитель упаривали при комнатной температуре. Остаток растирали с эфиром, фильтровали и сушили. Очищали с помощью препаративной ВЭЖХ. Выход 0.035 г (лиофилизат). R_f 0.45 (Б), R_f 4.15.

Анти-ВИЧ-активность испытуемых препаратов изучалась в НИИ эпидемиологии и микробиологии им. Н.Ф. Гамалеи РАМН, Москва. Испытания проводились по схеме, предложенной агентством FDA (США), для первичной оценки антивирусного действия методами непрямой иммунофлуоресценции и иммуноферментного анализа. Анти-ВИЧ-активность препаратов определяли на высокочувствительной к ВИЧ Т-лимфобластоидной культуре клеток человека MT4. В качестве источника вируса использовали клеточную линию HTIV27, хронически продуцирующую недефектный ВИЧ-1. Все культуры инкубировали при 37°C в атмосфере 4.5% CO₂ в течение 7 сут. Более подробно методика испытаний изложена в работе [2].

Острая цитотоксичность соединений регистрировалась в инвертированном микроскопе (20-крат-

ное увеличение) на клетках MT4 через 24 ч после внесения препаратов. Критерием цитотоксичности являлась тотальная гибель клеток.

Работа выполнена при поддержке Международного научно-технического центра (грант N127). Авторы выражают благодарность Г.Г. Миллер и Л.Н. Покидышевой за проведение испытаний веществ на анти-ВИЧ-активность.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Aggarwal S.K., Gogu S.R., Rangan S.R.S., Agrawal K.C. // J. Med. Chem. 1990. V. 33. P. 1505–1510.
2. Малекин С.И., Кругляк Ю.Л., Хромова Н.Ю., Аксенова М.Ю., Соколов В.П., Кисин А.В., Новожилова Т.И., Попова С.Г., Курочкин В.К., Миллер Г.Г., Покидышева Л.Н. // Биоорганич. химия. 1997. Т. 23. С. 648–654.
3. Лекарственные препараты России. Справочник. М.: АстраФармСервис, 1996. С. 682.
4. Хавинсон В.Х., Синакевич Н.В., Серый С.В. Тимоген. СПб.: Цитомед, 1991.
5. Яковлев Г.М., Морозов В.Г., Хавинсон В.Х., Дейгин В.И., Коротков А.М. Иммуностимулирующее средство "Тимоген": А. с. 1582393 СССР // Б. И. 1990. № 28.
6. Mansuri M.M., Starrett J.E., Ghazzouli I., Hitchcock M.J.M., Sterzycki R.Z., Brankovan V., Lin T.-S., August E.M., Prusoff W.H., Sommadossi I.-P., Martin J.C. // J. Med. Chem. 1989. V. 32. P. 461–466.
7. Neuhaus D. // J. Magn. Res. 1983. V. 53. P. 109.
8. Kinns M., Sanders J.K.M. // J. Magn. Res. 1984. V. 56. P. 518.
9. Stilbs P. // Anal. Chem. 1980. V. 52. P. 569–572.

Conjugates of 2',3'-Didehydro-3'-deoxythymidine with Thymogen: Synthesis and Anti-HIV Activity

V. V. Ryakhovskii*, S. I. Malekin*, V. M. Nosova**,
A. V. Kisin**, Yu. L. Kruglyak**, and V. K. Kurochkin*

*State Research Institute of Organic Chemistry and Technology, sh. Entuziastov 23, Moscow, 111024 Russia

**State Research Institute of Chemistry and Technology of Elementorganic Compounds, Moscow, Russia

An effective synthesis of thymogen was developed. Conjugates of 2',3'-didehydro-3'-deoxythymidine (nucleoside d4T) with thymogen were prepared in which the nucleoside hydroxyl group was linked to the thymogen carboxyl group of either tryptophan or glutamic acid residues. It was shown that the anti-HIV activity of the d4T–thymogene conjugate with the tryptophan linkage was comparable to that of d4T, whereas its cytotoxicity was nil. The d4T–tryptophan conjugate also displayed high anti-HIV activity.

Key words: anti-HIV activity, immunostimulator, nucleoside, thymogen, tryptophan

To whom correspondence should be addressed; phone +7 (095) 273-8753.