



УДК 547.854.4'455.522.057+615.012.1

СЛОЖНОЭФИРНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ НУКЛЕОЗИДНЫХ ИНГИБИТОРОВ ОБРАТНОЙ ТРАНСКРИПТАЗЫ. II. МОЛЕКУЛЯРНЫЕ СИСТЕМЫ НА ОСНОВЕ 3'-АЗИДО-3'-ДЕЗОКСИТИМИДИНА И 2',3'-ДИДЕГИДРО-3'-ДЕЗОКСИТИМИДИНА ДЛЯ КОМБИНИРОВАННОЙ ТЕРАПИИ

© 2005 г. Ю. В. Березовская[#], М. В. Чудинов*Московская государственная академия тонкой химической технологии им. М.В. Ломоносова, 119571, Москва, просп. Вернадского, 86, кафедра биотехнологии*

Поступила в редакцию 23.03.2004 г. Принята к печати 16.11.2004 г.

Рассмотрены методы синтеза конъюгатов анти-ВИЧ-нуклеозидов с различными соединениями, такими, как ингибиторы протеиназ, пептиды, полисахариды и бицикламы, предназначенных для комбинированной терапии ВИЧ.

Ключевые слова: анти-ВИЧ-нуклеозиды; азидотимидин; ставудин; комбинированная терапия.

Данный обзор посвящен сложноэфирным производным нуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы (NIRT). В первой его части [1] были рассмотрены системы молекулярного транспорта NIRT. В результате их распада в организме должно, предположительно, происходить двойное терапевтическое воздействие. В англоязычной литературе такие конъюгаты называют “double drug”, мы будем использовать для них термин “комбинированные лекарства”. Основное внимание было уделено способам химического синтеза таких веществ. Так как противовирусная активность подобных соединений отражена в ряде публикаций [2–5], нами она будет освещена лишь частично.

Первыми препаратами, используемыми в медицинской практике для борьбы с ВИЧ, были именно аналоги нуклеозидов [6–11]. В настоящее

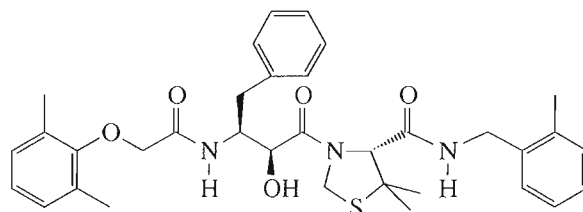
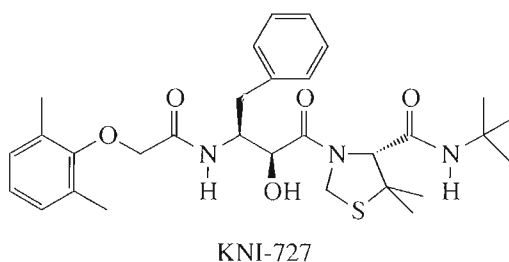
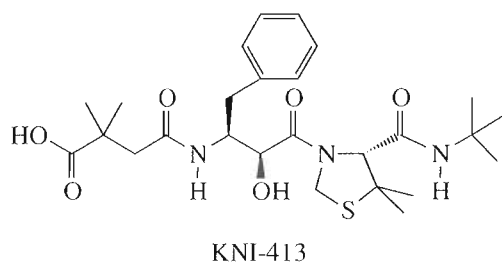
время в медицинской практике преимущественно используют комбинированную терапию ВИЧ. Для этих целей применяют сочетания различных NIRT (например, AZT плюс d4T) или сочетания с другими, сходными по действию агентами. Так, наиболее широко распространено применение ингибиторов обратной транскриптазы вместе с ингибиторами протеиназы [12–15] или интегразы [16]. Также используют сочетания нуклеозидных и ненуклеозидных ингибиторов обратной транскриптазы [17] с иммуноактивными веществами (пептидами и полисахаридами) [18, 19]; с соединениями, влияющими на устойчивость вирусной частицы (например, бицикламами) [20]; с антагонистами рецепторов клеток-мишеней ВИЧ (пептидами) [21–23]. Для комбинированной терапии предлагается также использовать конъюгаты двух лекарств, которые при попадании в физиологическую среду будут разрушаться клеточными ферментами на два действующих агента.

Для модификации нуклеозидов часто используют их 5'-гидроксильную группу [24]. Логика комбинированной терапии предполагает, что связь между нуклеозидом и модифицирующим остатком должна легко расщепляться клеточными ферментами. Производные NIRT, содержащие в 5'-положении фосфатную или фосфонатную группы, имитирующие природную структуру нуклеотида, уже достаточно полно освещены в литературе [2, 25–29]. В данном обзоре рассматриваются соединения, содержащие 5'-сложноэфирную связь, легко разрушаемую эстеразами *in vivo* с высвобождением лекарства/лекарств [30–32].

Часть I см. [1].

Сокращения: ВИЧ – вирус иммунодефицита человека; ГЭБ – гематоэнцефалический барьер; AZT – 3'-азидо-3'-дезокситимидин; BOP – бензотриазол-1-илокси-трис(диметиламино)фосфонийгексафторфосфат; CC₅₀ – 50%-ная цитотоксическая доза: концентрация, убивающая 50% клеток; CDI – *N,N*-карбонилдиимидазол; d4T – 2',3'-дидегидро-3'-дезокситимидин; DCHA – дициклогексилламин; DIPCDI – 1,3-дизопропилкарбодимид; DIPEA – диизопропилэтиламин; DMAP – *N,N*-диметилпиридин-4-амин; EC₅₀ – 50%-ная эффективная противовирусная доза: концентрация, которая уменьшает на 50% индуцируемый вирусом цитопатический эффект; Fmoc – флуоренилметилоксикарбонил; HOBt – *N*-гидроксисбензотриазол; MBzl – *para*-метоксибензил; NIRT – нуклеозидный ингибитор обратной транскриптазы; Nuc-ON – нуклеозид; SI – индекс селективности: отношение CC₅₀ к EC₅₀.

[#] Автор для переписки (эл. почта: julia_ber@rambler.ru; тел.: (095) 434-83-55; факс: (095) 434-82-33).



СИСТЕМЫ С ИНГИБИТОРАМИ ПРОТЕИНАЗЫ

Ингибиторы протеиназы ВИЧ широко используются в комбинированной анти-ВИЧ-терапии [12–15]. Конъюгат такого вещества с нуклеозидным ингибитором обратной транскриптазы может создавать синергетический эффект, обусловленный совместным действием двух анти-ВИЧ-механизмов. Возможно, это позволит уменьшить используемые дозы лекарств и, таким образом, подавить побочные эффекты.

К ингибиторам протеиназы ВИЧ-1 относятся, например, пептидомиметики – KNI-413 и другие [33]. Соединение KNI-413, имеющее свободную карбоксильную группу, хорошо ингибирует фермент, но его противовирусная активность относительно низка. Авторы работ [32–35] синтезировали комбинированные лекарства путем образования сложноэфирной связи между карбоксильной группой ингибиторов протеиназы ВИЧ (гомологов KNI-413) и 5'-гидроксильной группой AZT. Синтез таких конъюгатов осуществляли двумя методами (схема 1). В первом случае (путь А) вначале конденсацией AZT с соответствующим циклическим ангидридом в присутствии DMAP были получены моноэфиры дикарбоновых кислот с AZT (**Ia**), (**Iв**)–(**Iд**). Для региоселективного получения производного (**Iб**) AZT ацилировали предварительно полученным моно(*пара*-метоксибензиловым) эфиром соответствующей кислоты, с последующим удалением защитной группировки. Далее проводили конденсацию моноэфиров (**Ia**)–(**Iд**) с соединениями (**IIa**), (**IIe**), (**IIз**), (**IIк**) в присутствии BOP/НОвt с получением конъюгатов (**IIIa**)–(**IIIл**). Во втором случае (путь Б) из соединений (**IIa**), (**IIe**), (**IIз**), (**IIк**) и соответствующих ангидридов получали ингибиторы протеиназы (**Va**)–(**Vл**), содержащие карбоксильную группу.

Затем конденсацией с AZT получали конъюгаты (**IIIб**), (**IIIe**), (**IIIз**), (**IIIк**). Однако этот путь синтеза сопровождается нежелательной внутримолекулярной циклизацией с образованием имидных производных (**IV**), что снижает выход целевых продуктов до 8–9%.

Наибольшую анти-ВИЧ-активность показало соединение (**IIIк**) – в 46 раз большую, чем AZT; довольно высокую активность (в 6.6 раз большую, чем AZT, и в 2.1 раза большую, чем ингибитор протеиназы) – продемонстрировал конъюгат (**IIIe**).

Стратегия создания комбинированных лекарств путем непосредственного присоединения нуклеозида ко второму компоненту применима только к ингибиторам протеиназы, содержащим карбоксильную группу. В других случаях необходим спейсер. Те же авторы синтезировали конъюгаты AZT с ингибиторами протеиназы KNI-727 и KNI-840, не имеющими карбоксильной, но содержащими гидроксильную группу [36, 37]. Сначала получали моноэфир соединения (**VI**) и янтарной или глутаровой кислоты, который конденсировали непосредственно с AZT или со сложным эфиром AZT и аминокислоты-спейсера (**VIII**) (схема 2). Среди полученных соединений (**IXa**)–(**IXк**) наиболее активным оказалось (**IXв**), его анти-ВИЧ-активность в 62 раза выше, чем у AZT, и в 920 раз выше, чем у входящего в его состав ингибитора протеиназы ((**VI**), R = *трет*-бутил).

В литературе описано комбинированное лекарство (**XII**), содержащее ингибитор протеиназы A74704 (**X**) и d4T [38], а в качестве спейсера – остаток янтарной кислоты. Сложный эфир (**XI**) ингибитора протеиназы был получен реакцией янтарного ангидрида с A74704 в присутствии DMAP в CH₂Cl₂ (выход 64%) (схема 3). Взаимодействие карбоксильной функции соединения (**XI**) с 5'-гидроксильной группой d4T в присут-

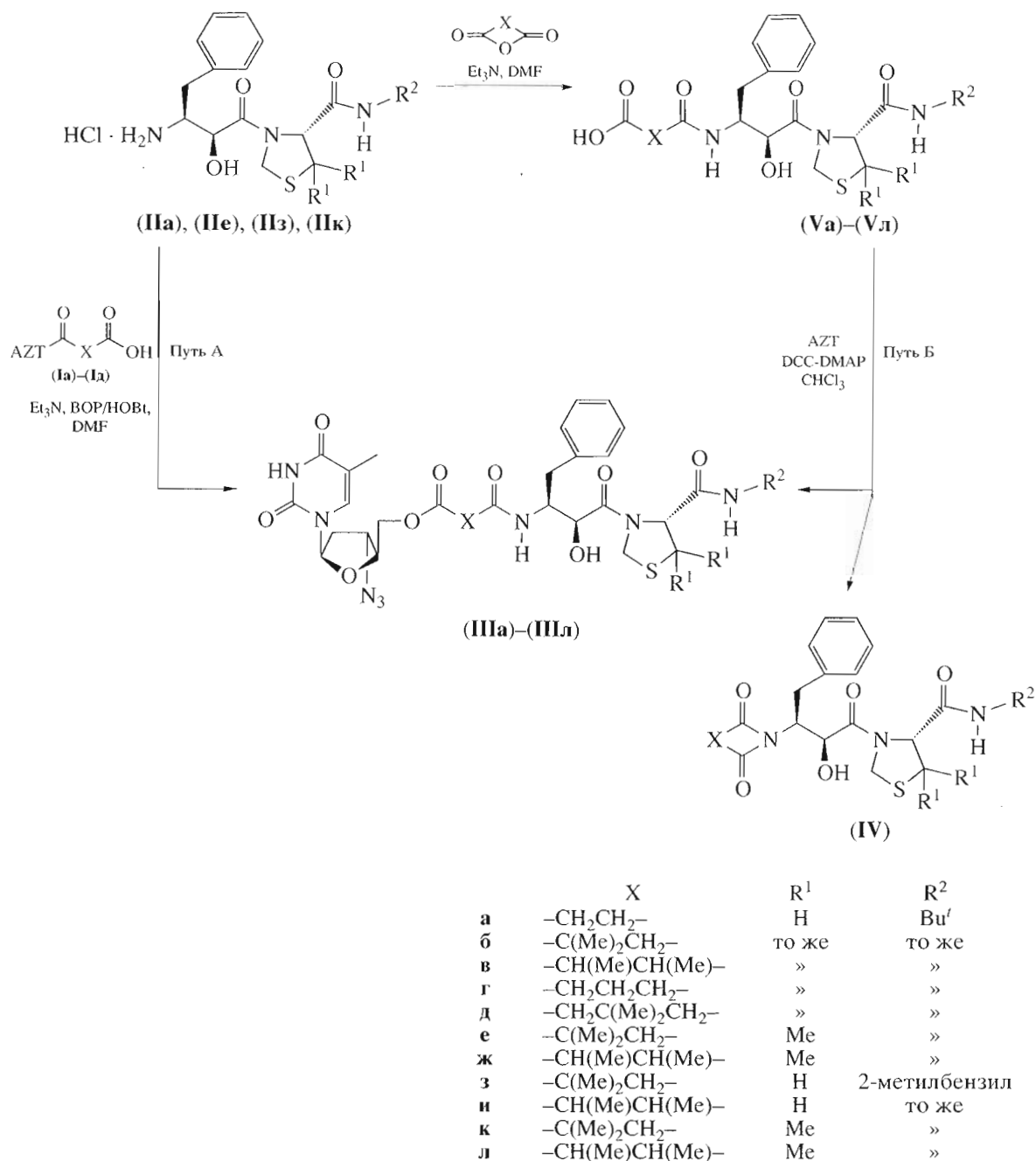


Схема 1. Синтез 5'-O-конъюгатов AZT с ингибиторами протеиназы ВИЧ, содержащими карбоксильную группу [32–34].

вии DCC и каталитического количества DMAP привело к целевому диэфиру (XII) с 40%-ным выходом. Соединение (XII) проявило устойчивость к ферментативному гидролизу липазой; в присутствии эстеразы печени кролика его гидролиз составил менее 20%. Вероятно, вследствие своей устойчивости, конъюгат (XII) оказался неактивен против ВИЧ-1 (IIIВ) в клетках МТ-4 даже при токсических концентрациях.

СИСТЕМЫ С ПОЛИСАХАРИДАМИ

В работе [39] было показано, что полианионы, такие, как декстрансульфат, могут подавлять репликацию ВИЧ. Позднее была обнаружена анти-ВИЧ-активность *in vitro* у различных сульфатированных полисахаридов [40–44]. Так, курдлансульфат – сульфатированный β-1,3-глюкан – обладает высокой противовирусной активностью (EC₅₀ 0.50 мк/мл) и полностью ингибирует ВИЧ-

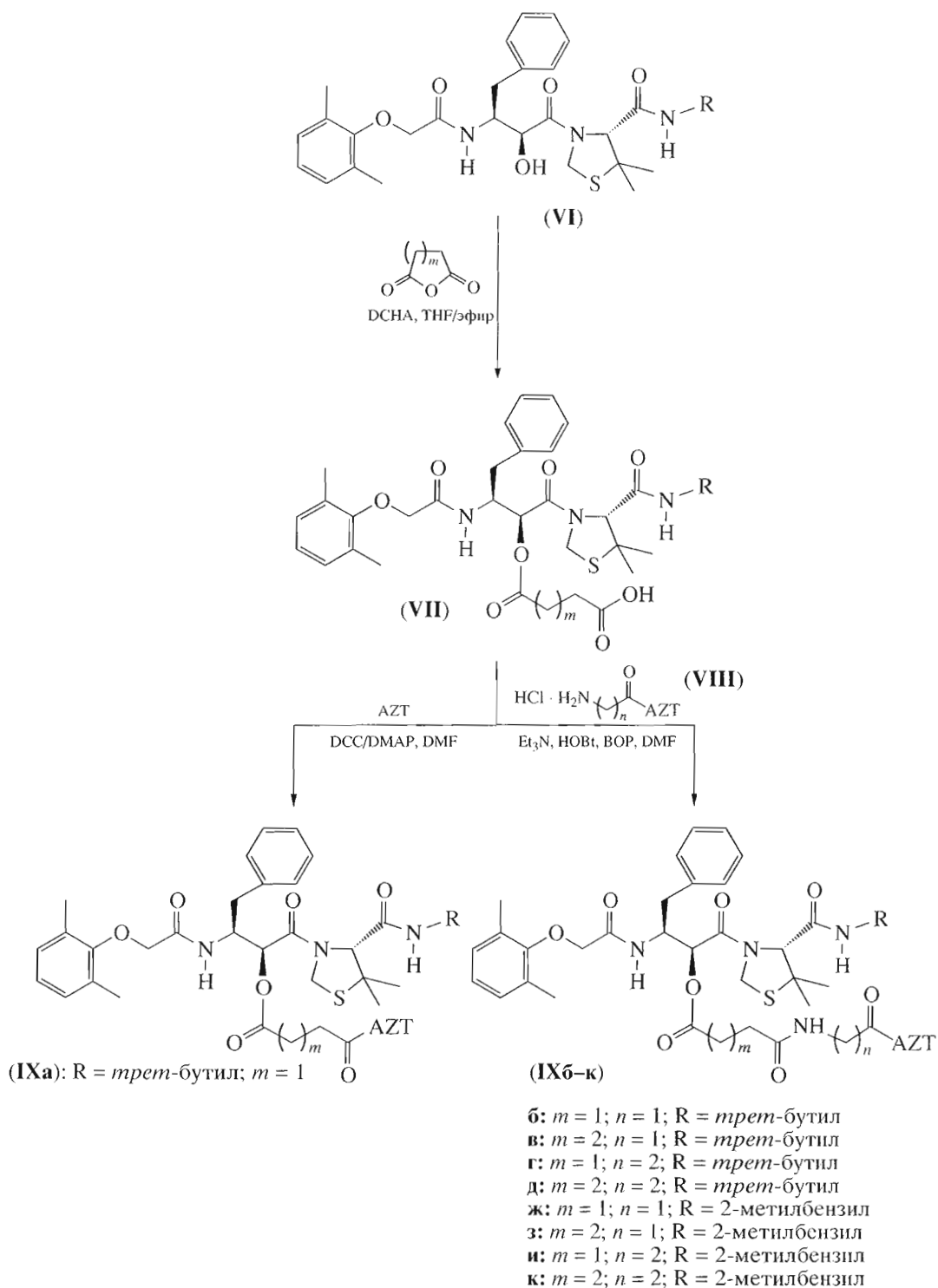


Схема 2. Синтез 5'-*O*-конъюгатов AZT с ингибиторами протеиназы ВИЧ, не содержащими карбоксильную группу [35, 36].

инфекцию при концентрации 3.3 мк/мл *in vitro*. Он также проявил низкую антикоагулянтную активность и низкую цитотоксичность. Результаты клинических испытаний показали, что применение курдлансульфата увеличивает число CD4-лимфо-

цитов в крови больных СПИД. Было обнаружено, что курдлансульфат накапливается в таких органах и тканях, как печень, почки, лимфатические узлы и костный мозг. Можно ожидать, что курдлансульфат, соединенный с NIRT, с одной стороны,

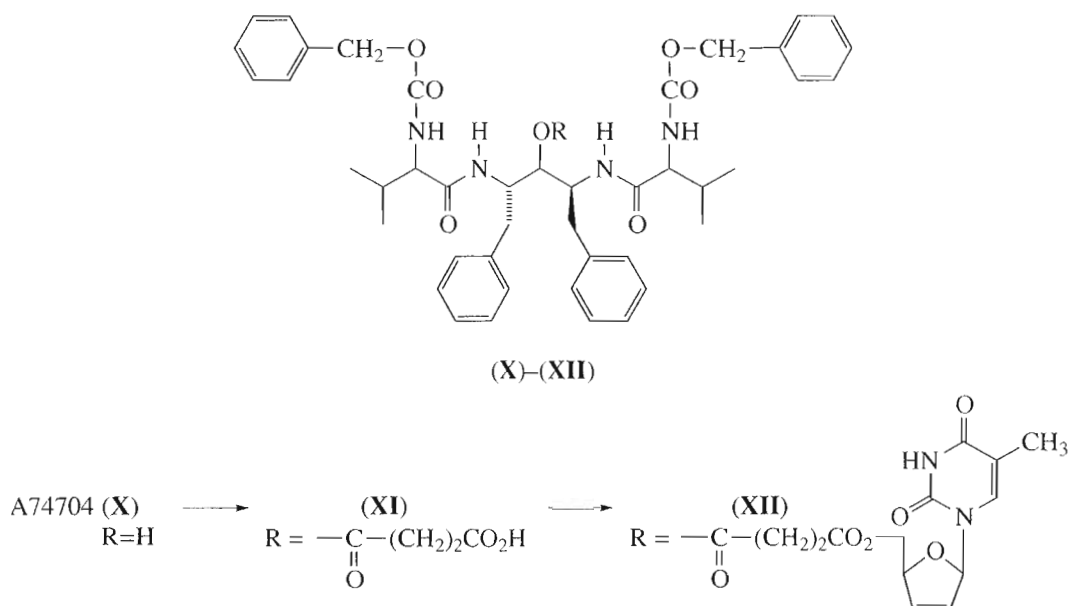


Схема 3. Синтез комбинированного лекарства из d4T и ингибитора протеиназы A74704 [37].

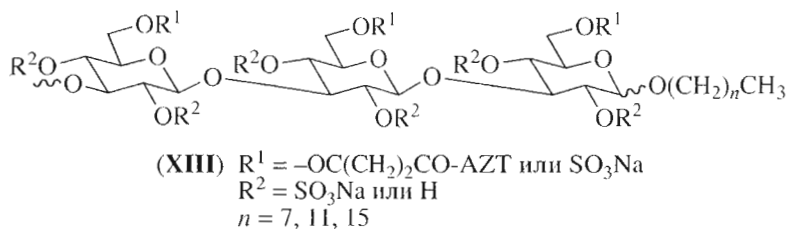
проявит синергетический эффект, а с другой – будет способствовать доставке лекарства в лимфоидные ткани.

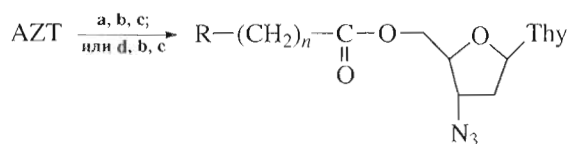
Наличие в молекуле полисахарида большого количества гидроксильных групп дает возможность присоединения к ней нескольких молекул AZT. В качестве спейсеров выбрали ряд двухосновных кислот $HOOC-(CH_2)_n-COOH$, где $n = 2, 4, 6, 8, 10, 12$ [19, 45]. Реакцией AZT с янтарным ангидридом в пиридине при $0^\circ C$ в присутствии DMAP в качестве катализатора получали 5'-сукцинат AZT. Максимальный выход этого продукта (73%) был достигнут при использовании 1.8 экв. янтарного ангидрида. Другие производные ($n = 4, 6, 8, 10, 12$) были получены из соответствующих кислот в присутствии DCC и DMAP. Температурные условия варьировали в зависимости от растворимости исходных ангидридов в пиридине (для адипиновой, додекандионовой и $1,12$ -додекандионовой, так как при $80^\circ C$ образуются побочные продукты).

Далее 5'-ацил-AZT вводили в реакцию этерификации с курдланом в присутствии DMAP и

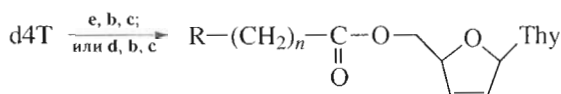
DCC. Для 5'-сукцината AZT показано, что количество замещенных гидроксильных групп в молекуле курдлана растет при увеличении количества AZT-компонента, вводимого в реакцию, но не зависит от ее длительности. Наиболее эффективный результат (50%-ное включение) был достигнут при повторной этерификации выделяемого продукта реакции. Конъюгат AZT-курдлан сульфатировали комплексом SO_3 -пиридин в DMSO при комнатной температуре. Для получения AZT-курдлансульфатов с высокой степенью сульфатирования было необходимо увеличить время взаимодействия и количество SO_3 -пиридина по сравнению с реакцией сульфатирования незамещенного курдлана. С использованием 6.68 экв. SO_3 -пиридина за 90 мин удалось добиться получения продукта со степенью сульфатирования 1.31 в расчете на 1 OH-группу и замещения на остаток 5'-ацил-AZT – 0.50 в расчете на один остаток моносахарида.

Было показано [45], что такие производные стабильны при нейтральных pH, но разрушаются под действием эстераз с высвобождением AZT. Можно ожидать, что они будут работать как ком-





- (b) (XIVa, б): R = -CO₂H (a); n = 2, 3
 (XVa, б): R = -C(O)-O-C(O)-C₆H₂(OCH₃)₃; n = 2, 3
 (c) (XVIa, б): R = -CO₂-(κ-каррагинан); n = 2, 3
 (b) (XIVв, г): R = -CO₂H (d); n = 4, 6
 (XVв, г): R = -C(O)-O-C(O)-C₆H₂(OCH₃)₃; n = 4, 6
 (c) (XVIв, г): R = -CO₂-(κ-каррагинан); n = 4, 6



- (b) (XVIIa): R = -CO₂H (e); n = 2
 (XVIIIa): R = -C(O)-O-C(O)-C₆H₂(OCH₃)₃; n = 2
 (c) (XIXa): R = -CO₂-(κ-каррагинан); n = 2
 (b) (XVIIб, в): R = -CO₂H (d); n = 4, 6
 (XVIIIб, в): R = -C(O)-O-C(O)-C₆H₂(OCH₃)₃; n = 4, 6
 (c) (XIXб, в): R = -CO₂-(κ-каррагинан); n = 4, 6

- (a) янтарный или глутаровый ангидрид, DMAP, DMF
 (b) 3,4,5-триметоксибензоилхлорид, Et₃N, AcOEt
 (c) κ-каррагинан, DMF
 (d) адипиновая или субериновая кислота, DMAP, DCC, DMF
 (e) янтарный ангидрид, DMAP, DMF

Схема 4. Синтез конъюгатов NIRT с каррагинаном [47].

бинированное лекарство. Кроме того, по мнению авторов работы, скорость высвобождения AZT можно регулировать, варьируя спейсеры, так как скорость ферментативного гидролиза зависит от длины спейсерной цепочки.

Те же авторы изучали производные AZT с алкилгликозидами сульфатированных олигосахаридов (XIII) [46], полученные по описанной выше схеме. Производные (XIII) показали высокую анти-ВИЧ-активность при очень низкой, почти не детектируемой антикоагулянтной активности.

Кроме того, описан синтез производных AZT и d4T с другим природным полисахаридом – каррагинаном [47], который обладает некоторой анти-ВИЧ-активностью, блокируя адсорбцию вируса на клеточной поверхности [48, 49]. Каррагинан присоединяли к нуклеозиду через спейсер. В качестве спейсеров использовали двухосновные кислоты с различной длиной углеводородной цепи, для синтеза сложноэфирных конъюгатов с полисахаридом применяли метод активированных эфиров

(схема 4). Использование для синтеза конъюгатов (XVIa–г), (XIXa–в) приблизительно 10-кратного избытка смешанных ангидридов (XVa–г), (XVIIIa–в) приводит к целевым производным с наилучшим выходом и наибольшей степенью сохранения остатков NIRT.

Все полученные производные сравнимы по активности с исходными NIRT или незначительно менее активны, чем они, но обладают более низкой токсичностью.

СИСТЕМЫ С ПЕПТИДАМИ

Пептиды могут проявлять противовирусную активность, так как они способны вмешиваться в жизненный цикл вируса на первых стадиях: 1) пептидная цепь может иметь средство к белкам оболочки вируса и, следовательно, мешать слиянию мембран вируса и клетки; 2) пептиды, специфичные к рецепторам клеток-мишеней, также препятствуют проникновению вируса в клетку; 3) пептид, обладающий иммуноактивным действием, влияет

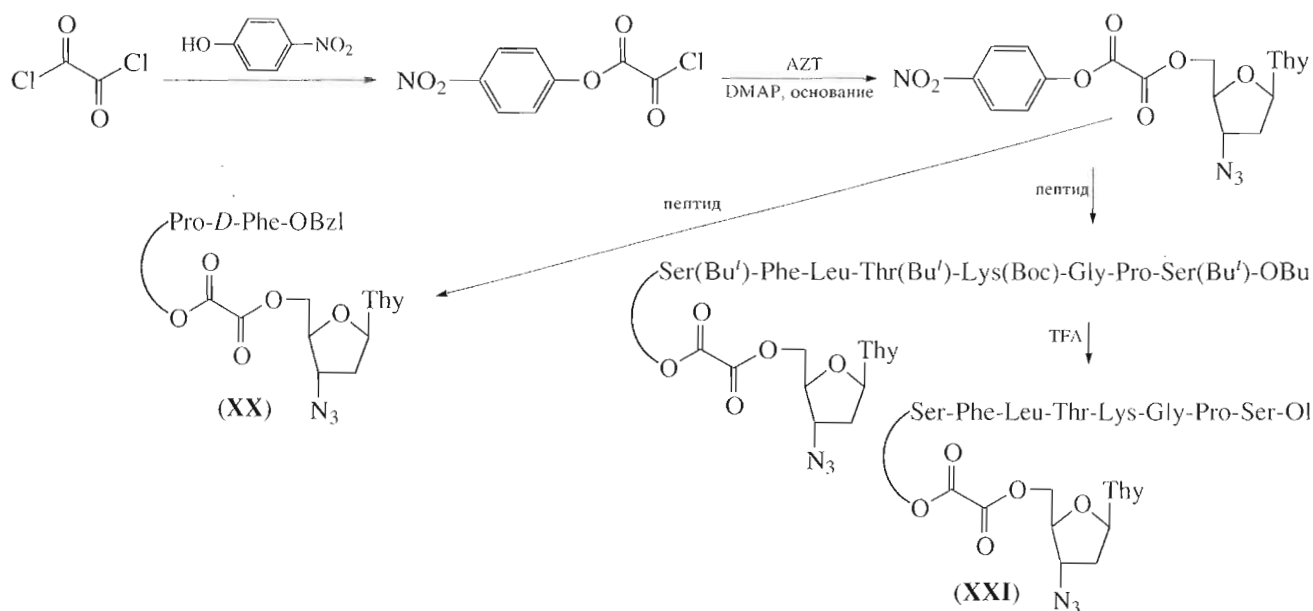


Схема 5. Синтез конъюгатов AZT с пептидами, ингибирующими связывание рецептора CD4 на поверхности Т-клетки с вирусным белком gp120 [21].

на функциональное состояние лимфоидных клеток, которые являются основной мишенью, поражаемой ВИЧ. Таким образом, создание гибридных молекул NIRT с различными по действию пептидами является одним из направлений поиска эффективных анти-ВИЧ-лекарств. Если пептид содержит карбоксильную группу в боковых цепях остатков аминокислот, входящих в его состав, или на конце цепи, эти группы можно использовать для создания сложноэфирной связи с 5'-гидроксильной группой нуклеозида. Если свободных карбоксильных групп нет или они защищены, то можно осуществлять связывание двух молекул через другие функциональные группы пептида и подходящий спейсер.

Известно, что инфицирование хозяйской клетки вирусом ВИЧ-1 начинается, когда белок оболочки вируса gp120 связывается с рецептором CD4 на поверхности Т-клетки [50]. Авторы работы [21] синтезировали конъюгаты AZT и других NIRT с пептидной последовательностью, специфичной к белку gp120. Таким образом были получены соединения (XX) и (XXI), теоретически способные к ингибированию как связывания с gp120, так и действия обратной транскриптазы ВИЧ-1. Между нуклеозидом и пептидом содержится спейсер, остаток щавелевой кислоты.

Для синтеза конъюгатов (XX) и (XXI) *n*-нитрофенол добавляли к избытку оксалилхлорида и кипятили 16 ч (схема 5). Полученный *n*-нитрофенил-2-хлор-2-оксоацетат реагировал с нуклеозидом в сухом пиридине в присутствии DMAP в течение 24–36 ч при комнатной температуре. Да-

лее проводили амидирование соответствующим пептидом. Производное AZT с более коротким пептидом (XX) при предварительной оценке показало ингибирование репликации ВИЧ.

Пептиды, аналоги тахицептина, обладают значительной анти-ВИЧ-активностью [51, 52]. Пептидные последовательности T131 [22] и T140 [53], являясь антагонистами корецептора CXCR4, блокируют слияние вируса с клеткой. Таким образом, конъюгаты с пептидами T131 и T140 могут обладать следующими достоинствами: аффинностью к ВИЧ-корецептору CXCR4 – производные пептидов, возможно, работают как переносчики, нацеленные на Т-клетки [54, 55]; способностью не только предотвратить слияние вируса с клеткой, но и нарушить цикл его репликации.

Синтез конъюгатов AZT и цистеинсодержащих пептидов (XXIII)–(XXVI) проводили по схеме 6 [22, 23]. Для присоединения *N*-концевой α-аминогруппы пептида к 5'-гидроксильной группе AZT использовали сукцинильный или глутарильный спейсер. 5'-Гемисукцинат (XXIIa) или 5'-глутарат AZT (XXIIб) конденсировали с *N*^α-аминогруппой защищенного пептида на смоле с помощью DIPCDI и HOBT и получали защищенный конъюгат. Затем проводили одновременное удаление защит и снятие со смолы с параллельным замыканием дисульфидного мостика обработкой Me₃SiCl-DMSO/TFA. Конъюгаты с сукцинильным спейсером нестабильны в водной среде при pH 7–8 и на воздухе из-за высвобождения AZT из молекулы и образования *N*^α-сукцинимидного производного пептида.

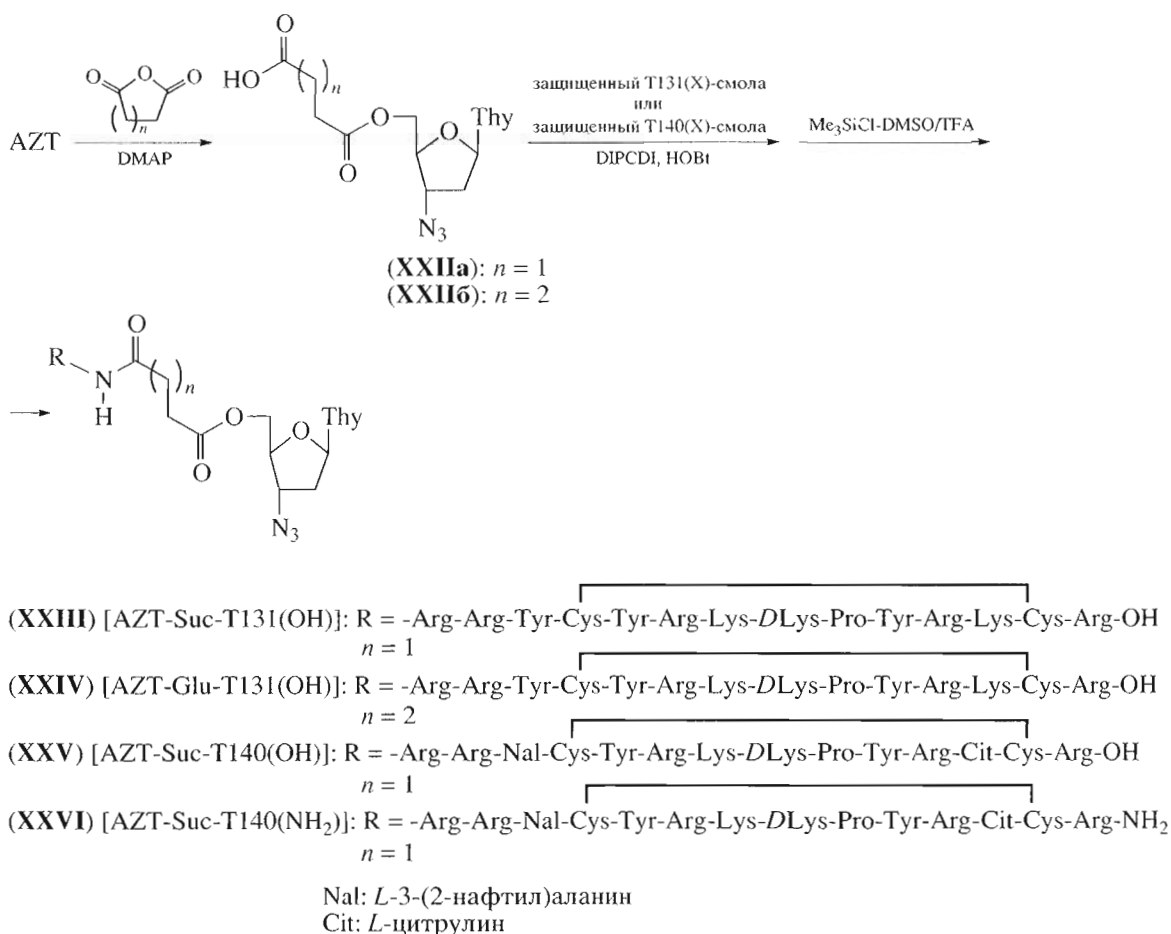


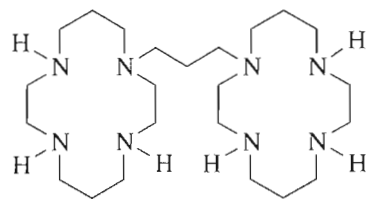
Схема 6. Синтез производных AZT с пептидами T131 и T140 [22, 23].

Синтез гибридных молекул эффективного противовирусного нуклеозида d4T с иммуноактивным дипептидом тимогеном [56] осуществила группа В.В. Ряховского [18].

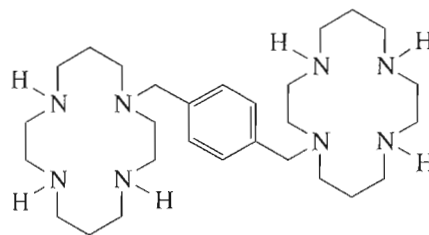
В молекуле дипептида тимогена (HGlu-TrpOH) имеются три свободные функциональные группы – концевые карбоксильная и аминогруппа и γ -карбоксильная остатка глутаминовой кислоты. Следовательно, возможно несколько вариантов связывания с 5'-гидроксильной группой нуклеозида. Получены конъюгаты, в которых d4T связан с карбоксильными группами как триптофанового, так и глутаминового остатков [18]. Для синтеза

конъюгата (**XXVII**) проводили последовательное присоединение остатков двух аминокислот к нуклеозиду. В конъюгате (**XXVIII**) остаток NIRT был соединен с γ -карбоксильной группой остатка глутаминовой кислоты (схема 7).

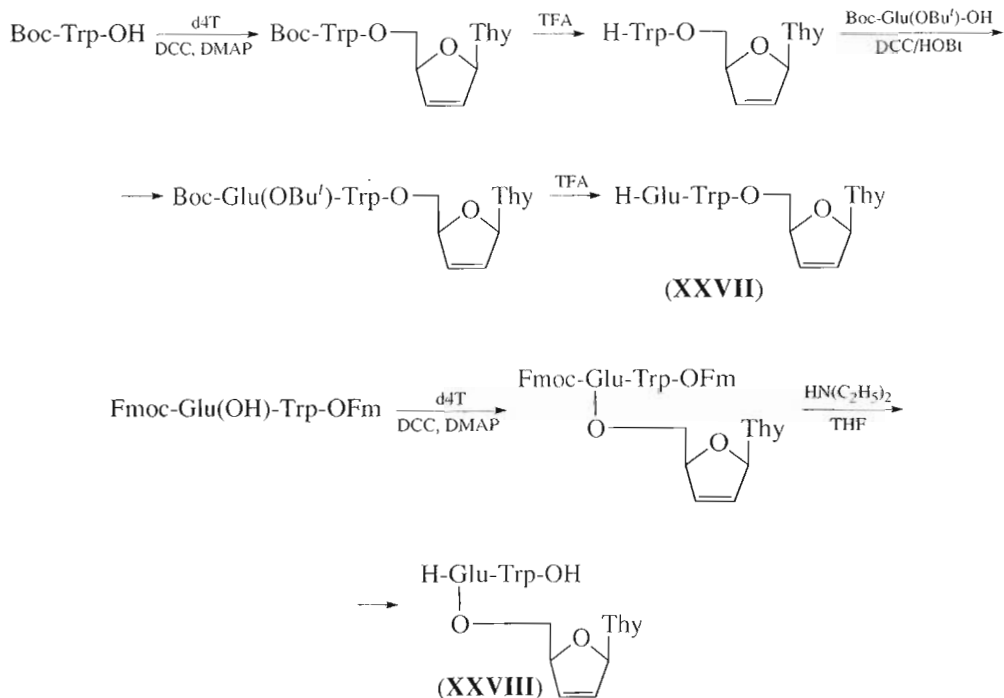
Анализ противовирусной активности синтезированных производных показал, что конъюгат тимогена с d4T, соединенный через карбоксильную группу триптофана, и конъюгат нуклеозида с триптофаном – высокоактивные соединения, сравнимые по активности со свободным нуклеозидом. Оба конъюгата, кроме того, не обладают ци-



JM 2763



JM 3100



Fm – флуоренилметил.

Схема 7. Синтез конъюгатов d4T с тимогеном [18].

тотоксичностью в концентрациях до 100 мкг/мл в отношении клеток человека МТ-4.

ДРУГИЕ СИСТЕМЫ

Бицикламы, такие, как JM 2763 и JM 3100, участвуют в процессе разрушения капсида вируса ВИЧ. Это происходит благодаря слиянию бициклама с оболочкой вируса и последующему декапсидированию (удалению белков капсида). Кроме того, известно, что бицикламы взаимодействуют с рецептором хемокинов CXCR4 (этот ВИЧ-ко-рецептор используется T-направленными вирусами при инфицировании клетки), предотвращая, таким образом, слияние вируса с T-клеткой [57]. Следовательно, конъюгаты противовирусного нуклеозида и бициклама могут быть селективно нацелены на рецептор хемокинов CXCR4 и будут ингибировать ВИЧ-инфекцию клетки.

Так, описана система, состоящая из NIRT и *N*-Boc-замещенных и незамещенных циклических полиаминов [20, 58]. Предполагали, что сродство к рецептору позволит точно доставить комбинированное лекарство к клетке-мишени, а высокая липофильность системы облегчит проникновение через клеточную мембрану. Следует заметить, что цикламный компонент не только увеличивает липофильность всей системы, но и ингибирует ВИЧ-индуцированное слияние мембран.

Исходя из интермедиата (XXIX), синтезировали две серии моно-тетраазамакроциклических конъюгатов NIRT (схема 8) [20]. Первая серия представляла конъюгаты AZT и d4T с *N*-алкилированным цикламом. Конденсацией синтона (XXIX) с этил-5-бромвалератом получали соответствующий алкилированный полиазамакроцикл. Последующий гидролиз сложного эфира давал соединение (XXX) с общим выходом 28%. Конденсация производного (XXX) с нуклеозидом в присутствии DCC/HOBt оказалась малоэффективна и приводила в основном к образованию побочных продуктов – производных *N*-ацилмочевины. Лучшего результата удалось добиться, применяя в качестве конденсирующего агента BOP. Удаление Boc-защитных групп HCl в сухом диэтиловом эфире позволило получить хлоргидраты (XXXIV), при этом сложноэфирная связь не затрагивалась.

Вторая серия представляла *N*-ацилтетраазамакроциклические конъюгаты с нуклеозидом. Соединение (XXIX) ацилировали избытком глутарилдихлорида. Ожидаемый ацилхлорид (XXXII) был получен с примесью (15%) бис-полиазамакроцикла, образующегося вследствие димеризации интермедиата (XXIX). Конденсация соединения (XXXII) с нуклеозидами в присутствии DMAP давала целевые эфиры (XXXIII) с относительно низкими выходами (30%). После удаления защит-

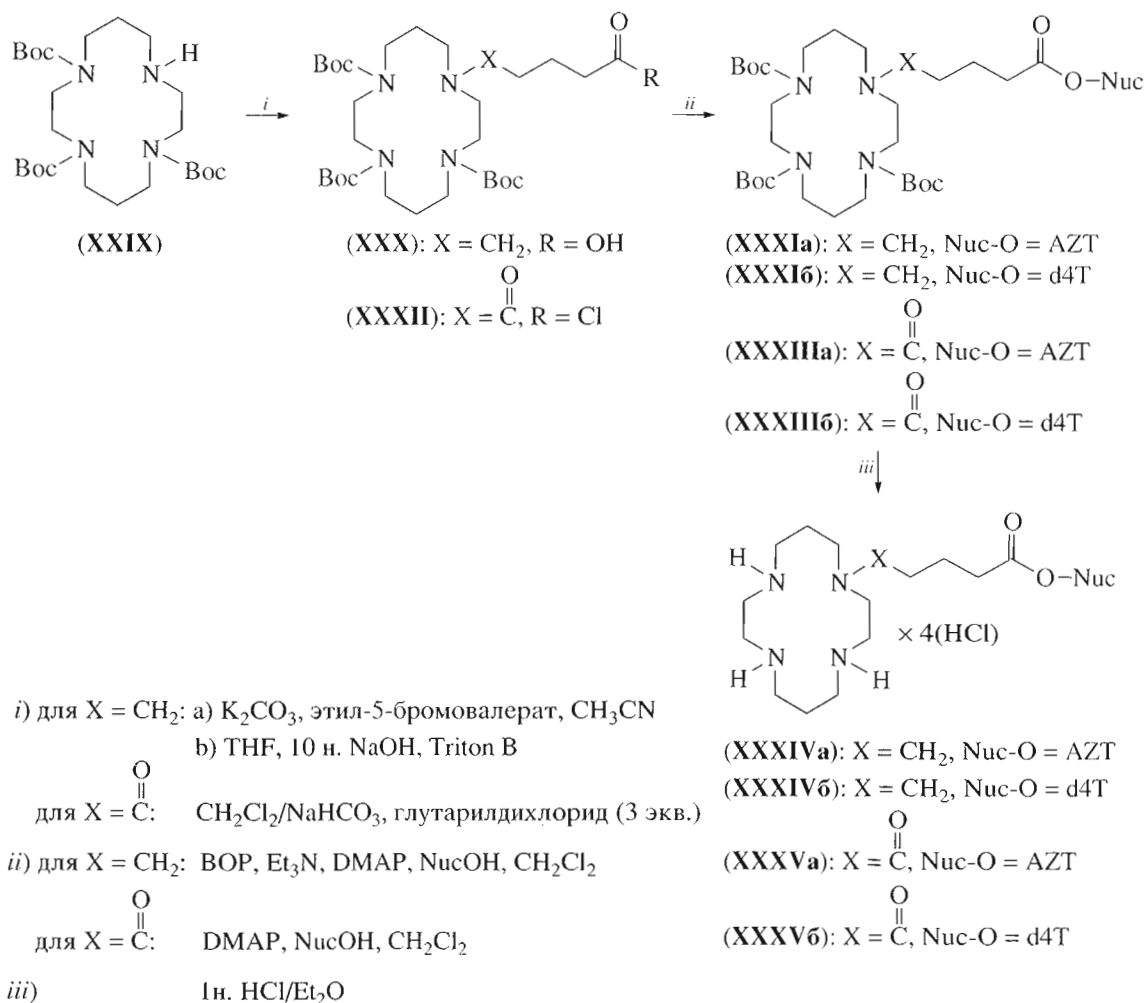


Схема 8. Синтез конъюгатов NIRT с цикламами [20].

ных групп описанным ранее способом получали конъюгаты (XXXV).

Синтез различных серий бис-(тетраазамакроциклических) конъюгатов с AZT представлен на схеме 9 [59]. Соединения (XXIX) и (XXXVI) конденсировали с использованием подходящего спейсера (глутарилдихлорида для первой серии; α,α' -дибром-*n*-ксилола и терефталойлдихлорида для второй и третьей серий, соответственно). Такая конденсация давала в каждом случае смесь трех продуктов, которые можно было разделить только после омыления всей смеси. Для получения конъюгатов с AZT (XLIII), (XLIV) и (XLV) в качестве конденсирующего агента использовали BOP и реакцию проводили в дихлорметане в присутствии триэтиламина и DMAP. После удаления защитных групп HCl в диэтиловом эфире получали соединения (XLVI), (XLVII) и (XLVIII).

Моноцикламные аналоги оказались несколько менее активными, чем бицикламные. Соединения (XLIV) и (XLVII) были на порядок более активны, чем исходный AZT, тогда как активность производных (XLV) и (XLVIII) была такой же, как у AZT. Эти соединения оказались достаточно липофильными для проникновения через мембраны путем диффузии, что подтверждается их противовирусной активностью.

Нуклеозидные ингибиторы обратной транскриптазы обладают не только анти-ВИЧ, но и противоопухолевой активностью. Это возможно, так как эти соединения влияют на синтез генетического материала вообще, а не только вирусного. Поэтому возможно создание комбинированных противовирусных систем с участием нуклеозидов и противоопухолевых лекарств.

Дитерпеноид таксол (Taxol®), выделенный из тихоокеанского тиса *Taxus brevifolia* [60], облада-

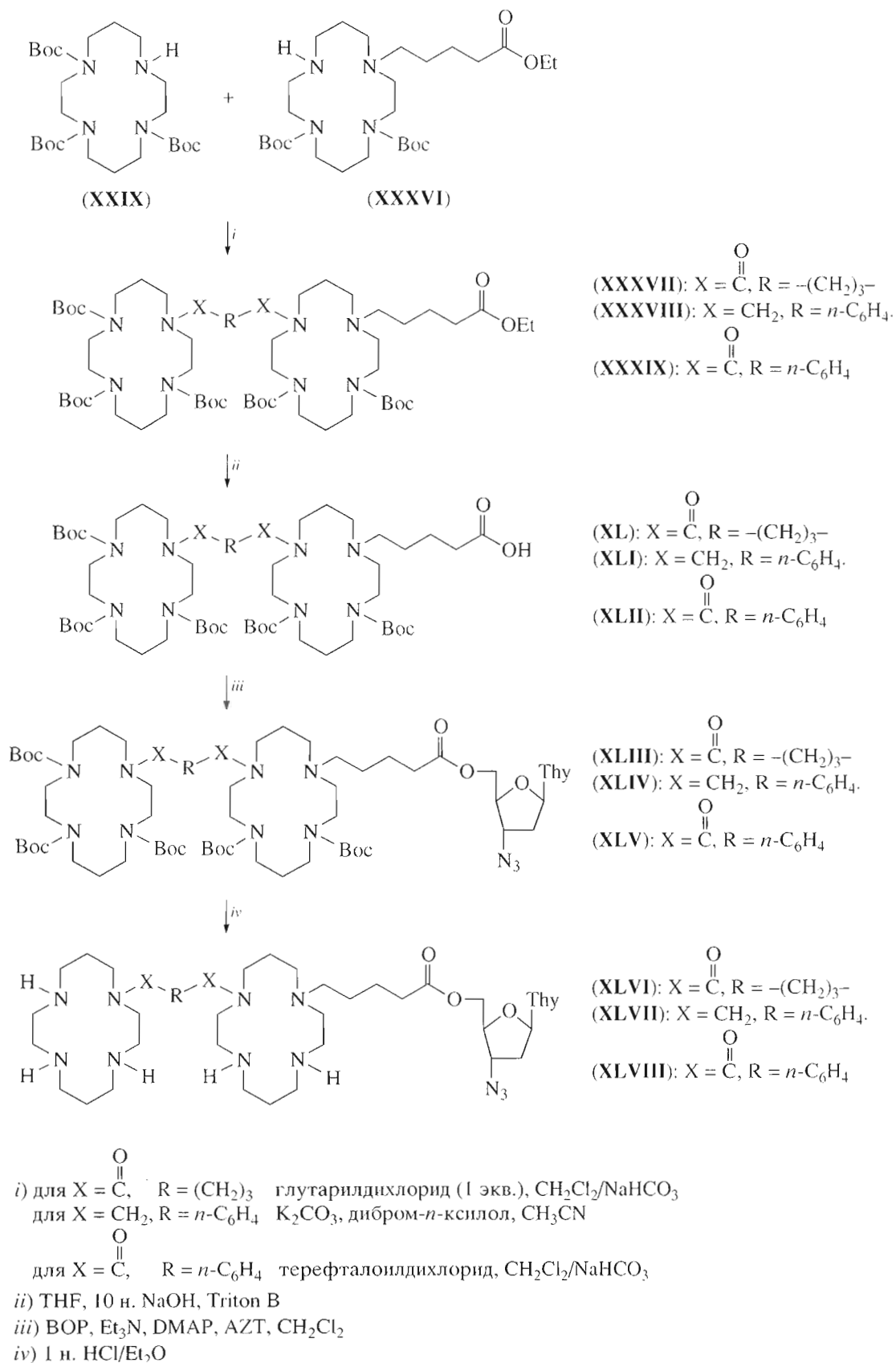


Схема 9. Синтез конъюгатов AZT с бицикламами [59].

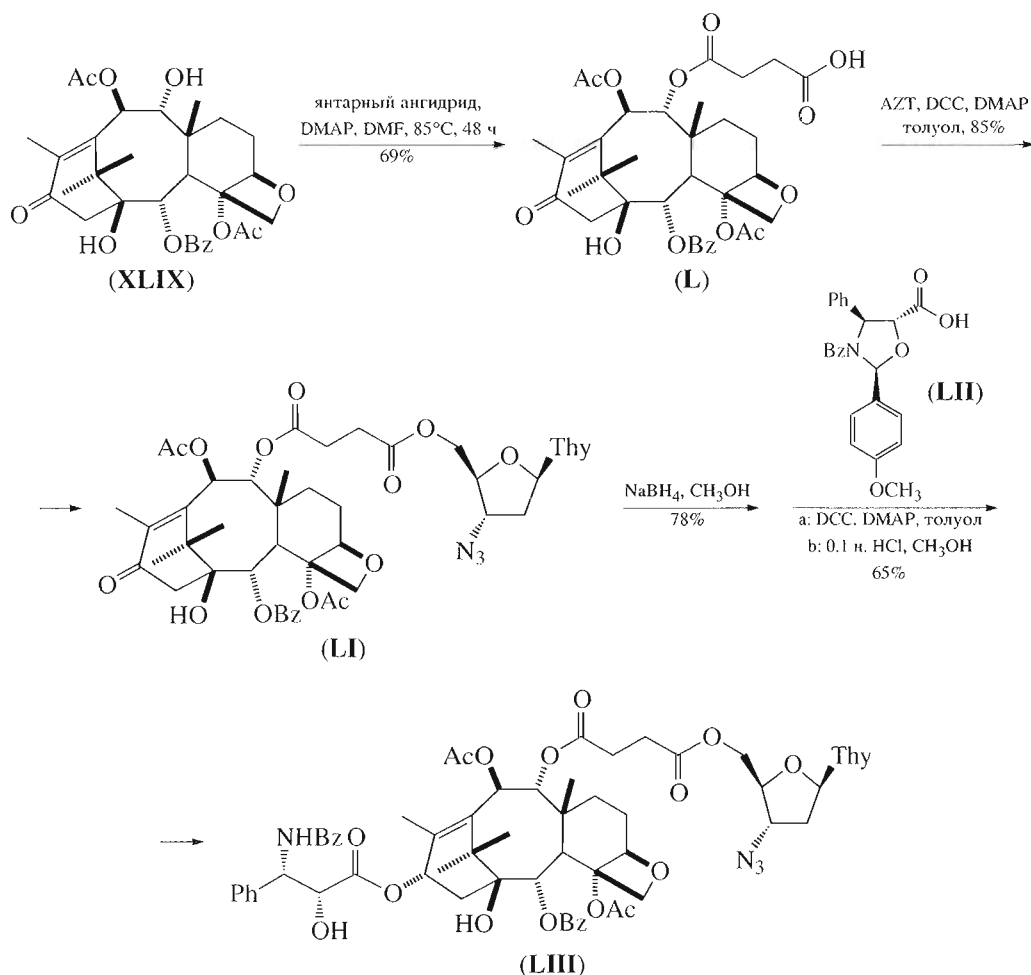
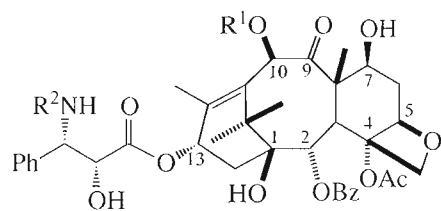


Схема 10. Синтез производного AZT с 7-дезоксигидротаксолом [63].

ет существенной цитотоксичностью и высокой активностью против различных опухолей, устойчивых к существующим антираковым препаратам [60–62]. Среди структурных аналогов таксола особое место занимает потенциально биоактивный таксид доцетаксол (Taxotere®). Были синтезированы производные NIRT с 7-дезоксигидротаксолом и изучены их противоопухолевые свойства [63].



Таксол: $R^1 = \text{Ac}$, $R^2 = \text{Bz}$
Доцетаксол: $R^1 = \text{H}$, $R^2 = \text{Boc}$

Для построения конъюгата таксоида с азидотимидином в качестве мостика, соединяющего две молекулы, авторы выбрали остаток янтарной кислоты (схема 10). Производное природного таксоида (XLIX) обрабатывали избытком янтарного ангидрида, полученный сукцинат (L) затем вводили в реакцию с AZT в присутствии DMAP и выделяли соединение (LI) (выход 85%). После восстановления продукта (LI) с последующей этерификацией (2*S*,4*S*,5*R*)-*N*-3-бензоил-2-(*p*-метоксифенил)-4-фенил-1,3-оксазолидин-5-карбоновой кислотой (LII) и кислотного гидролиза был получен целевой продукт (LIII) с 51%-ным выходом.

Противоопухолевую активность полученного производного изучали в двух системах: измеряли цитотоксичность *in vitro* в пяти клеточных линиях опухолей человека и активность сборки микротрубочек. По сравнению с таксолом синтезированное производное (LIII) снижало активность сборки тубулина и имело меньшую цитотоксичность для большинства исследуемых клеточных линий.

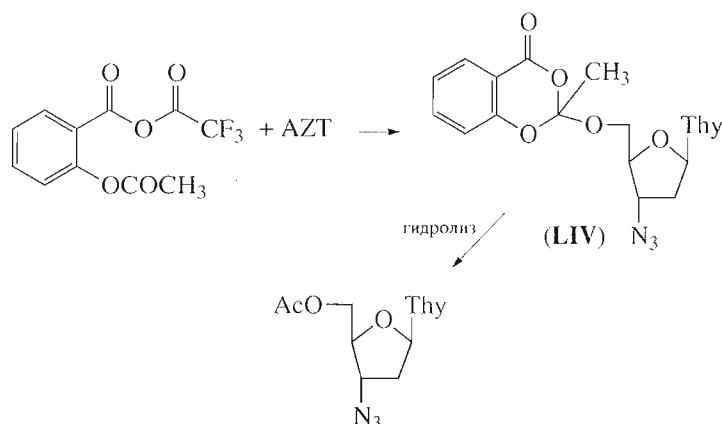


Схема 11. Синтез конъюгата AZT с ацетилсалициловой кислотой [64].

В литературе имеются данные о синтезе комбинированного лекарства из азидотимидина с ацетилсалициловой кислотой [64]. Хотя такое производное не является классическим сложным эфиром, его гидролиз проходит через стадию образования соответствующего эфира, что дает возможность осветить здесь и эти соединения. Реакцией смешанного ангидрида ацетилсалициловой и трифторуксусной кислоты с AZT был получен модифицированный по 5'-положению нуклеозид (LIV) (схема 11). Гидролиз полученного конъюгата в средах для выращивания, используемых для анти-ВИЧ-исследований, показал образование 5'-ацетилированного производного нуклеозида, которое далее гидролизует до исходного AZT.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В данном обзоре мы постарались осветить работы последнего времени, описывающие новый подход к комбинированной терапии ВИЧ: создание комбинированных лекарств – пролекарственных форм, высвобождающих в процессе метаболизма более чем один фармакофор и действующих одновременно на различные клеточные и молекулярные мишени.

Как и в предыдущей части обзора [1], ввиду большого количества материала нам пришлось ограничиться только комбинированными лекарствами, содержащими в качестве одного из фармакофоров зидовудин или ставудин – наиболее широко применяемые NIRT, соединенные с другим фармакофором сложноэфирной связью. Однако общая методология создания подобных систем, по нашему мнению, представлена достаточно ясно.

Авторы выражают благодарность С.И. Свиридову (ChemBridge Inc.) за информационную поддержку.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Березовская Ю.В., Чудинов М.В. // Биоорганическая химия. 2005. Т. 31. С. 339–356.
2. Parang K., Wiebe L.I., Knaus E.E. // Curr. Med. Chem. 2000. V. 7. P. 995–1039.
3. Calogeropoulou T., Detsi A., Lekkas E., Koufaki M. // Curr. Top. Med. Chem. 2003. V. 3. P. 1467–1495.
4. Gulick R.M. // Clin. Microbiol. Infect. 2003. V. 9. P. 186–193.
5. Macchi B., Mastino A. // Pharmacol. Res. 2002. V. 46. P. 473–482.
6. Rideout J.L., Barry D.W., Lehrman S.N., St. Clair M.H., Furman P.A., Beacham L.M., III, LeBlanc H.S., Freeman G.A. Therapeutic Nucleosides: EP 199451. 1986.
7. Marty R., Ouameur A.A., Neault J.F., Nafisi S., Tajmir-Riahi H.A. // DNA Cell Biol. 2004. V. 23. P. 135–140.
8. Mitsuya H., Weinhold K.J., Furman P.A., St. Clair M.H., Lehrman S.N., Gallo R.L., Bolognesi D., Barry D., Broder S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1985. V. 82. P. 7096–7100.
9. Chen B.-C., Quinlan S.L. Process for Preparing AZT: EP 653437. 1995.
10. Chen B.-C., Stark D.R., Baker S.R., Quinlan S.L. Preparation of 2',3'-didehydro-3'-deoxythymidine from 5-methyluridine: US Patent 5672698. 1997.
11. Baba M., Pauwels R., Herderwijn P., De Clercq E., Desmyter J., Vandeputte M. // Biophys. Biochem. Res. Commun. 1987. V. 142. P. 128–134.
12. Robbins G.K., De Gruttola V., Shafer R.W., Smeaton L.M., Snyder S.W., Pettinelli C., Dube M.P., Fischl M.A., Pollard R.B., Delapenha R., Murphy R.L., Becker M.I., D'Aquila R.T., Vella S., Hirsch M.S. // N. Engl. J. Med. 2003. V. 349. P. 2293–2303.
13. D'Aquila R.T., Hughes M.D., Johnson V.A., Fischl M.A., Sommadossi J.-P., Liou S.H., Timpone J., Myers M., Basgoz N., Niu M., Hirsch M.S. // Ann. Intern. Med. 1996. V. 124. P. 1019–1030.
14. Staszewski S., Miller V., Rehmert S., Stark T., De Cree J., De Brabander M., Peeters M., Andries K., Moere-mans M., De Raeymaeker M., Pearce G., den Broeck R., Verbiest W., Stoffels P. // AIDS. 1996. V. 10. P. F1–F7.

15. Carpenter C.C., Fischl M.A., Hammer S.M., Hirsch M.S., Jacobsen D.M., Katzenstein D.A., Montaner J.S., Richman D.D., Saag M.S., Schooley R.T., Thompson M.A., Vella S., Yeni P.G., Volberding P.A. // *JAMA*. 1996. V. 276. P. 146–154.
16. Tarrago-Litvak L., Andreola M.L., Fournier M., Nevinsky G.A., Parissi F., Soutraït V.R., Litvak S. // *Curr. Pharm. Des.* 2002. V. 8. P. 595–614.
17. Gavriliiu D., Fossey C., Ciurea A., Delbederi Z., Sugeac E., Laduree D., Schmidt S., Laumond G., Aubertin A.M. // *Nucleosides, Nucleotides & Nucleic Acids*. 2002. V. 21. P. 505–533.
18. Ряховский В.В., Малекин С.И., Носова В.М., Кушин А.В., Кругляк Ю.Л., Курочкин В.К. // *Биоорг. химия*. 1999. Т. 25. С. 499–504.
19. Gao Y., Katsuraya K., Kaneko Y., Mimura T., Nakashima H., Uryu T. // *Polymer J.* 1998. V. 30. P. 31–36.
20. Dessolin J., Vlieghe P., Bouygues M., Medou M., Quelever G., Camplo M., Chermann J.C., Kraus J.L. // *Nucleosides Nucleotides*. 1998. V. 17. P. 957–968.
21. Uchiyama T., Yoshino H., Takemoto M., Achiwa K. // *Chem. Pharm. Bull.* 1991. V. 39. P. 3091–3093.
22. Tamamura H., Ishihara T., Oyake H., Imai M., Otaka A., Ibuka T., Arakaki R., Nakashima H., Murakami T., Waki M., Matsumoto A., Yamamoto N., Fujii N. // *J. Chem. Soc. Perkin Trans. 1*. 1998. V. 3. P. 495–500.
23. Tamamura H., Omagari A., Hiramatsu K., Kanamoto T., Gotoh K., Kanbara K., Yamamoto N., Nakashima H., Otaka A., Fujii N. // *Bioorg. Med. Chem.* 2001. V. 9. P. 2179–2187.
24. Camplo M., Niddam V., Barthelemy P., Faury P., Mourier N., Simon V., Charvet A.S., Traubaud C., Graciet J.C., Chermann J.C., Kraus J.L. // *Eur. J. Med. Chem.* 1995. V. 30. P. 789–800.
25. Cahard D., McGuigan C., Balzarini J. // *Mini Rev. Med. Chem.* 2004. V. 4. P. 371–381.
26. Siccardi D., Gumbleton M., Omid Y., McGuigan C. // *Eur. J. Pharm. Sci.* 2004. V. 22. P. 25–31.
27. Zemlicka J. // *Biochim. Biophys. Acta*. 2002. V. 1587. P. 276–286.
28. Cieslak J., Sobkowski M., Jankowska J., Wenska M., Szymczak M., Imiolczyk B., Zagorowska I., Shugar D., Stawinski J., Kraszewski A. // *Acta Biochim. Pol.* 2001. V. 48. P. 429–442.
29. Tobias S.C., Borch R.F. // *J. Med. Chem.* 2001. V. 44. P. 4475–4480.
30. Buchwald P., Bodor N. // *Pharmazie*. 2002. V. 57. P. 87–93.
31. Mahfouz N.M., Hassan M.A. // *J. Pharm. Pharmacol.* 2001. V. 53. P. 841–848.
32. Takata J., Karube Y., Nagata Y., Matsushima Y. // *J. Pharm. Sci.* 1995. V. 84. P. 96–100.
33. Kiso Y., Matsumoto H., Yamaguchi S., Kimura T. // *Lett. Pept. Sci.* 1999. V. 6. P. 275–281.
34. Matsumoto H., Matsuda T., Nakata S., Mitoguchi T., Kimura T., Hayashi Y., Kiso Y. // *Bioorg. Med. Chem.* 2001. V. 9. P. 417–430.
35. Kimura T., Matsumoto H., Matsuda T., Hamawaki T., Akaji K., Kiso Y. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1999. V. 9. P. 803–806.
36. Matsumoto H., Kimura T., Hamawaki T., Kumagai A., Goto T., Sano K., Hayashi Y., Kiso Y. // *Bioorg. Med. Chem.* 2001. V. 9. P. 1589–1600.
37. Kiso Y., Fujino M. Preparation of Multidrug-bonded Compounds as anti-HIV agents: JP 2000309598. 2000.
38. van Calenbergh S., Nair V. // *Nucleosides Nucleotides*. 1999. V. 18. P. 737–738.
39. De Clercq E. // *J. Med. Chem.* 1986. V. 29. P. 1561–1569.
40. Moriya T., Kurita H., Matsumoto K., Otake T., Mori H., Morimoto M., Ueba N., Kunita N. // *J. Med. Chem.* 1991. V. 34. P. 2301–2304.
41. Kaneko Y., Yoshida O., Nakagawa R., Yoshida T., Date M., Ogihara S., Shioya S., Matsuzawa Y., Nagashima N., Irie Y. // *Biochem. Pharmacol.* 1990. V. 39. P. 793–797.
42. Yoshida T., Hatanaka K., Uryu T., Kaneko Y., Suzuki E., Miyano H., Mimura T., Yoshida O., Yamamoto N. // *Macromolecules*. 1990. V. 23. P. 3717–3720.
43. Uryu T., Ikushima N., Katsuraya K., Shoji T., Takahashi T., Yoshida T., Kanno K., Murakami T., Nakashima H., Yamamoto N. // *Biochem. Pharmacol.* 1992. V. 43. P. 2385–2392.
44. Neyts J., Reyman D., Letourner D., Jozovicz J., Schols D., Este J., Andrei G., McKenna P., Witvrouw M., Ikeda S., Clement J., De Clercq E. // *Biochem. Pharmacol.* 1995. V. 50. P. 743–751.
45. Gao Y., Katsuraya K., Kaneko Y., Mimura T., Nakashima H., Uryu T. // *Macromolecules*. 1999. V. 32. P. 8319–8324.
46. Gao Y., Katsuraya K., Kaneko Y., Mimura T., Nakashima H., Uryu T. // *Polymer J.* 1998. V. 30. P. 243–248.
47. Vlieghe P., Kraus J.-L., Clerc T., Salles J.-P. Preparation of Nucleoside-carrageenan Conjugates as Antiviral and Antitumor agents: Intl. Pat. WO 0077019, 2000.
48. Yamada T., Ogamo A., Saito T., Watanabe J., Uchiyama H., Nakagawa Y. // *Carbohydrate Polymers*. 1997. V. 32. P. 51–55.
49. Carlucci M.J., Pujol C.A., Ciancia M., Noseda M.D., Matulewicz M.C., Damonte E.B., Cerezo A.S. // *Int. J. Biol. Macromolecules*. 1997. V. 20. P. 97–105.
50. McDougal J.S., Kennedy M.S., Sligh J.M., Cort S.P., Mawle A., Nicholson J.K.A. // *Science*. 1986. V. 231. P. 382–385.
51. Tamamura H., Ikoma R., Niwa M., Funakoshi S., Murakami T., Fujii N. // *Chem. Pharm. Bull.* 1993. V. 41. P. 978–980.
52. Tamamura H., Murakami T., Masuda M., Otaka A., Takada W., Ibuka T., Nakashima H., Waki M., Matsumoto A., Yamamoto N., Fujii N. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1994. V. 205. P. 1729–1735.
53. Tamamura H., Xu Y., Hattori T., Zhang X., Arakaki R., Kanbara K., Omagari A., Otaka A., Ibuka T., Yamamoto N., Nakashima H., Fujii N. // *Biochem. Biophys. Res. Commun.* 1998. V. 253. P. 877–882.
54. Nakashima H., Masuda M., Murakami T., Koyanagi Y., Matsumoto A., Fujii N., Yamamoto N. // *Antimicrob. Agents Chemother.* 1992. V. 36. P. 1249–1255.
55. Tamamura H., Ishihara T., Otaka A., Murakami T., Ibuka T., Waki M., Matsumoto A., Yamamoto N., Fujii N. // *Biochim. Biophys. Acta*. 1996. V. 1298. P. 37–44.

56. Morozov V.G., Khavinson V.K. // *Int. J. Immunopharmacol.* 1997. V. 19. P. 501–505.
57. Schols D., Este J.A., Henson G., De Clerq E. // *Antiviral Res.* 1997. V. 35. P. 147–156.
58. Dessolin J., Galea P., Vlieghe P., Chermann J.-C., Kraus J.-L. // *J. Med. Chem.* 1999. V. 42. P. 229–241.
59. Wani M.S., Taylor H.L., Wall M.E., Coggon P., McPhail A.T. // *J. Am. Chem. Soc.* 1971. V. 93. P. 2325–2327.
60. Arbuck S.G., Christian M.C., Fisherman J.S., Cazenave L.A., Sarosy G., Suffness M., Adams J., Canetta R., Cole K.E., Friedman M.A. // *J. Natl. Cancer Inst. Monogr.* 1993. V. 15. P. 11–24.
61. Rowinsky E.K., Cazenave L.A., Donehower R.C. // *J. Natl. Cancer Inst.* 1990. V. 82. P. 1247–1259.
62. McGuire W.P., Rowinsky E.K., Rosenshein N.B., Grumbine F.C., Ettinger D.S., Armstrong D.K., Donehower R.C. // *Ann. Intern. Med.* 1989. V. 111. P. 273–279.
63. Cheng Q., Oritani T., Horiguchi T., Yamada T., Mong Y. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2000. V. 10. P. 517–521.
64. Zahran M.A., Kovacs L., El Sakka I., Pedersen E.B., Nielsen C. // *Arch. Pharm.* 1996. V. 329. P. 417–420.

Ester Derivatives of Nucleoside Inhibitors of Reverse Transcriptase: II. Molecular Systems for Combined Therapy with 3'-Azido-3'-Deoxythymidine and 2',3'-Didehydro-3'-Deoxythymidine

Yu. V. Berezovskaya[#] and M. V. Chudinov

[#] Phone: +7 (095) 434-8355; fax: +7 (095) 434-8233; e-mail: julia_ber@rambler.ru
Department of Biotechnology, Lomonosov State Academy of Fine Chemical Technology,
Moscow, pr. Vernadskogo 86, Moscow, 119571 Russia

The methods of synthesis of conjugates of anti-HIV nucleosides with various compounds, such as protease inhibitors, peptides, polysaccharides, and bicyclames, are considered; they are designated for the combined therapy of HIV. The English version of the paper: *Russian Journal of Bioorganic Chemistry*, 2005, vol. 31, no. 5; see also <http://www.maik.ru>.

Key words: anti-HIV nucleotides, azidothymidine, combined therapy, stavudine