



УДК 577.113.3

**МОДИФИЦИРОВАННЫЕ ФОСФАТЫ НУКЛЕОЗИДОВ  
КАК ПРЕДШЕСТВЕННИКИ ПРОТИВОВИРУСНЫХ  
И ПРОТИВООПУХОЛЕВЫХ СОЕДИНЕНИЙ В КЛЕТКЕ**© 1996 г. А. А. Арзуманов<sup>#</sup>, Н. Б. Дяткина

Институт молекулярной биологии им. В.А. Энгельгардта РАН, 117984, Москва, ул. Вавилова, 32

Поступила в редакцию 13.03.96 г.

Рассмотрены методы синтеза модифицированных фосфатов нуклеозидов, их метаболизм в клетке и противовирусная или цитостатическая активность.

*Ключевые слова:* модифицированные фосфаты нуклеозидов, синтез; вирус иммунодефицита человека.

В настоящее время модифицированные нуклеозиды и их аналоги широко применяются в качестве противовирусных или цитостатических препаратов. Попадая в клетку, такие соединения подвергаются ступенчатому фосфорилированию с образованием 5'-трифосфатов нуклеозидов. Эти трифосфаты модифицированных нуклеозидов выступают в качестве субстратов или ингибиторов ДНК-полимераз в инфицированной или трансформированной клетке. Часто процесс трифосфорилирования нуклеозидных аналогов затруднен или невозможен из-за высокой специфичности клеточных нуклеозид- и нуклеотидкиназ. Использовать непосредственно нуклеозид-5'-монофосфаты не удается из-за того, что их транспорт в клетку крайне ограничен; кроме того, на мембране клетки они быстро разрушаются до соответствующих нуклеозидов. Эти причины вызвали широкий интерес к синтезу пронуклеотидов, т.е. химически модифицированных dNMP, которые бы обладали способностью проникать в клетку и в результате химического или ферментативного гидролиза превращаться в соответствующие антиметаболиты [1, 2].

Сокращения: AZT – 3'-азидотимидин, araN – арабинонуклеозид, BVdU – 5-бромвинил-2'-дезоксисуридин, BrdU – 5-бром-2'-дезоксисуридин, DBU – 1,8-дизабицикло[5.4.0]ундец-7-ен(1,5-5), HIV – вирус иммунодефицита человека, HSV – вирус простого герпеса человека, ddN – 2',3'-дидезоксинуклеозид, d4N – 2',3'-дидезокси-2',3'-дидегидронуклеозид, DCC – 1,3-дициклогексилкарбодимид, tk<sup>-</sup> – линия клеток, дефицитных по тимидинкиназе, MSNT – 1-(2-метилсульфонил)-3-нитро-1,2,4-триазол, В – нуклеиновое основание, Nu – нуклеозид, TPSCl – 2,4,6-триизопропилбензол-сульфонилхлорид, FLT – 3'-фтортимидин, FdU – 5-фтор-2'-дезоксисуридин, SATE – S-ацил-2-тиоэтил, DTE – гидроксипропилдифторэтил, PAOB – *p*-ацилоксибензил, РСМ – пивалоилоксиметил.

<sup>#</sup> Автор для переписки (факс: 135-14-05; e-mail: chernov@imb.imb.ac.ru).

В ходе поиска противовирусных и цитостатических соединений, обладающих оптимальными фармакологическими свойствами, было синтезировано большое число эфиров и амидов dNMP, а также 5'-фосфонатов нуклеозидов. Было установлено, что действительно аналоги dNMP в ряде случаев являются непосредственными предшественниками нуклеозид-5'-монофосфатов, которые затем превращаются в соответствующие трифосфаты (схема 1, путь А). Помимо этого аналог dNMP может подвергаться ферментативному дефосфорилированию, являясь в данном случае пронуклеозидом (путь В). Образующиеся нуклеозиды далее подвергаются превращениям по нормальному для нуклеозидов метаболическому пути. Наконец, в случае фосфонатных аналогов можно предположить, что пронуклеотид моделирует 5'-монофосфаты нуклеозидов, превращаясь в  $\alpha$ -фосфонил- $\beta$ , $\gamma$ -дифосфатные производные (путь С), выступающие в качестве субстратов ДНК-полимераз. В настоящем обзоре рассмотрены синтез, противовирусная или цитостатическая активность и возможные метаболические пути основных типов пронуклеотидов.

Нами рассмотрены производные природных дезоксирибонуклеозидов, нуклеозидов с *арабино-* и *ксило-*конфигурацией, а также 3'- и 2'-замещенных нуклеозидов. За рамками обзора остались ациклические пронуклеотиды, достаточно подробно рассмотренные в обзоре 1994 г. [3].

## 1. ЭФИРЫ НУКЛЕОЗИДМОНОФОСФАТОВ

### 1.1. Алкиловые эфиры

Наиболее широко изученной группой пронуклеотидов, несомненно, являются эфиры 5'-фосфатов нуклеозидов, обладающих противоопухолевой или противовирусной активностью. В качестве

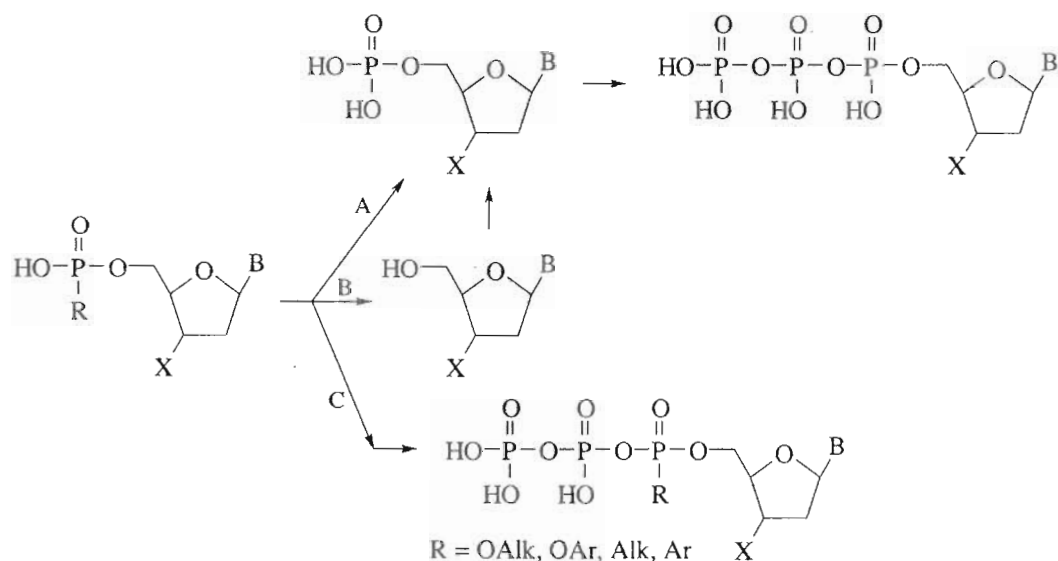
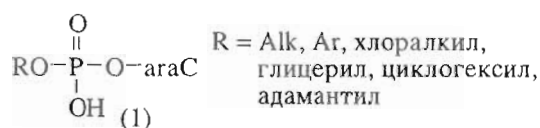


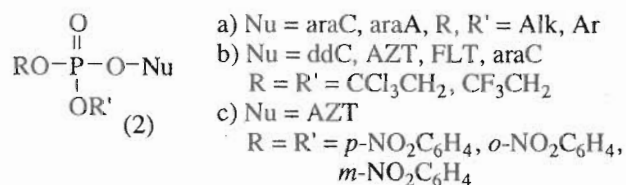
Схема 1.

примера рассмотрим производные (1) 5'-фосфата araC – нуклеозида, обладающего цитостатической активностью. Эти соединения были получены путем реакции нуклеозида с хлорокисью фосфора в триэтилфосфате и алкоголиза полученного хлорида нуклеозидмонофосфата соответствующим спиртом [4, 5].

Полученные соединения (1) не подавляли рост опухолевых клеток L1210/araC в организме мышей. Эта линия опухолевых клеток, дефицитная по цитидинкиназе, не чувствительна к araC. Подавление роста таких клеток при введении производных araCMP свидетельствовало бы о появлении внутри клеток свободного araCMP. Однако эфиры (1), по-видимому, разрушались до попадания в клетки.



Ряд диэфиров нуклеозидмонофосфатов включает различные производные (2) araC, araA, FLT, AZT, ddC-монофосфатов.



Производные araC [6] и araA [7, 8] (2a) получали из незащищенных нуклеозидов действием на них соответствующего диалкилфосфохлорида, выходы составили около 60%. Способность соединений (2a) ингибировать синтез ДНК в культурах опухолевых клеток оказалась в прямой зависимо-

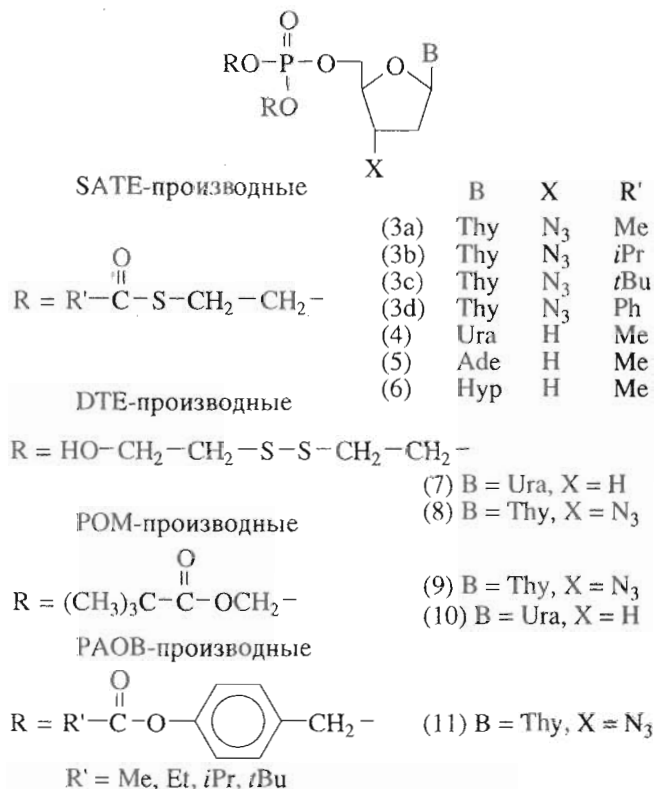
сти от их липофильности, однако не превышала 70% активности исходных нуклеозидов. Это можно объяснить высокой стабильностью диэфиров, затрудняющей их превращение в свободный мононуклеотид. Были сделаны попытки найти такие алкильные заместители при фосфате, которые обеспечивали бы диффузию нуклеотида через клеточную мембрану и затем легко гидролизывались.

Этим требованиям отвечают 1,1,1-трихлор- и 1,1,1-трифторэтильные производные (2b) araCMP [9], FLTMP [10], ddCMP [11] и AZTMP [11]. Синтез этих эфиров осуществляли так же, как эфиров (2a) [12]. Известно, что исходные нуклеозиды AZT [13], FLT [14] и ddC [15] эффективно ингибируют репродукцию HIV. Проверка соединений (2b), проведенная на линиях Т-клеток крови человека, инфицированных HIV, показала, что наиболее активным ингибитором является бис(1,1,1-трихлорэтил)фосфат FLT, который лишь в 2 раза уступает исходному нуклеозиду [10].

Синтез диарильных эфиров AZTMP (2c), содержащих нитрогруппу в бензольном кольце [16], осуществляли обработкой AZT диарилфосфохлоридом с выходом около 50% для *n*-нитро- и 85–88% для *o*-нитро- и *m*-нитропроизводных. Последнее оказалось столь же активным против вирусов HIV-1 и HIV-2, как и AZT, а два других диэфира – в несколько раз менее активными. Все они были неактивны в культуре tk<sup>-</sup>клеток. Полученные данные свидетельствуют о том, что соединения (2c) являются предшественниками AZT, но не его монофосфата.

Перспективными пронуклеотидами, устойчивыми в межклеточной среде и легко превращающимися в dNMP в клетке, являются фосфоэфиры, гидролизующие ферментами клетки. Примером

такого рода соединений являются бис(S-ацил-2-тиоэтил)- (SATE) (3)–(6) [17–20], бис(гидроксиэтилдитиоэтил)- (DTE) (7)–(8) [17, 20, 21], бис(пivalоилоксиметил)- (POM) (9)–(10) [20, 22–24] и бис(*n*-ацилоксибензил)- (РАОВ) (11) [25] нуклеозид-5'-монофосфаты, содержащие специфически расщепляемые клеточными карбоксистеразами или редуктазами химические связи.



На схеме 2 представлен возможный механизм превращений SATE- и DTE-производных AZTMP в клетке [17].

После инкубации SATE- или DTE-фосфотриэфиров в культуральной среде, содержащей 10% телячью эмбриональную сыворотку, или в клеточном экстракте продукты анализировали методом ВЭЖХ. Оказалось, что изучаемые соединения достаточно стабильны в среде, не содержащей ферменты, медленно гидролизуются в присутствии сыворотки и быстро гидролизуются с высвобождением dNMP в клеточном экстракте. Было установлено, что в культуральной среде основным путем превращения является (3a) → (12) → (13) → AZTMP, а в клеточном экстракте – (3a) → (12) → (13) → (14) → AZTMP, в то время как неферментативный гидролиз протекает медленно и приводит к непосредственному превращению (3a) → (13) [20]. Превращение POM- (9) [24] и РАОВ-производных (11) в AZTMP протекает аналогичным образом [25].

SATE-нуклеотиды (3)–(6) получали конденсацией нуклеозидов с соответствующим фосфорамидитным производным (15) либо конденсацией 5'-Н-фосфоната нуклеозида (16) с S-(2-гидроксиэтил)тиоацильным производным (17) (схема 3). Конденсация нуклеозида с DTE-эфиром фосфорной кислоты (18) по схеме 4 приводила к нуклеотидным производным (7) и (8).

POM-нуклеотиды (9) и (10) получают конденсацией бис(пivalоилоксиметил)фосфата с активированным нуклеозидом в присутствии трифенилфосфина и диэтилазидикарбоксилата. РАОВ-нуклеотиды (11) были получены фосфоамидитным методом при катализе 1Н-тетразолом с последующим окислением фосфита до фосфата аналогично SATE-нуклеотидам.

Противовирусное действие рассмотренных выше эфиров было изучено в культуре клеток, инфицированных HIV, в том числе клеток СЕМ-tk<sup>-</sup>.

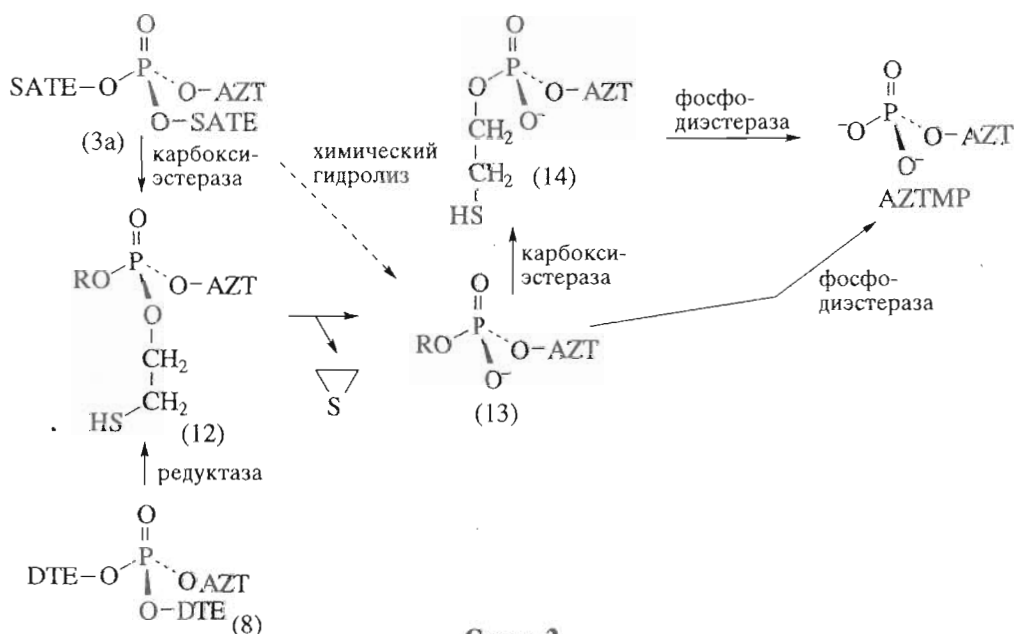
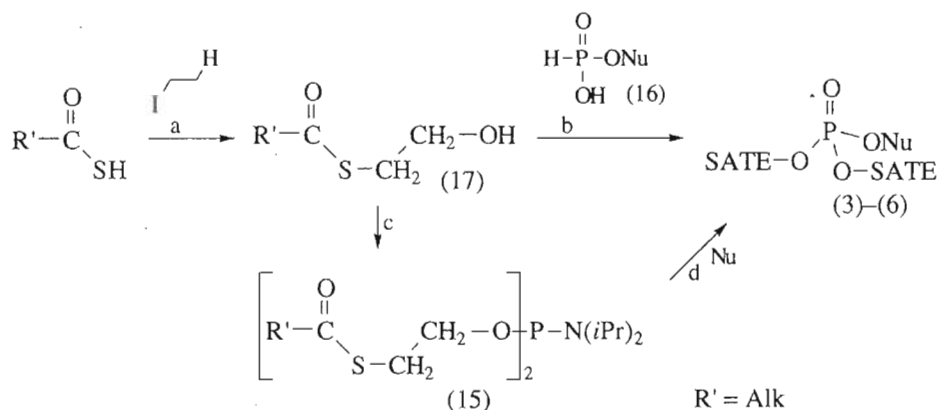
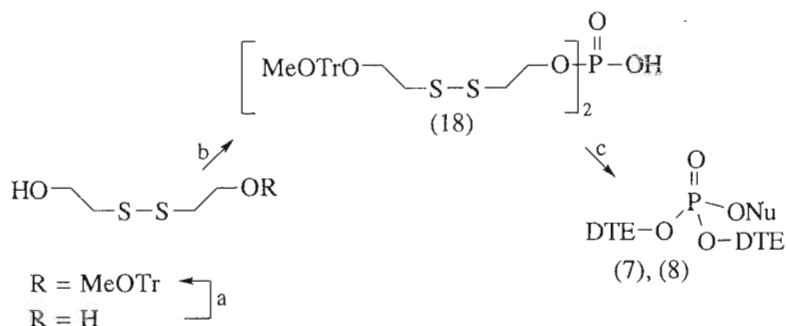


Схема 2.



a: DBU, толуол; b: 1)  $(\text{CH}_3)_3\text{CCOCl}$ , пиридин, 2)  $\text{I}_2$ /пиридин/вода;  
c:  $\text{Cl}_2\text{P}(\text{iPr})_2$ ,  $\text{NEt}_3$ /THF; d: 1H-тетразол/THF, затем  $\text{ClC}_6\text{H}_4\text{CO}_2\text{H}/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ .

Схема 3.



a:  $\text{MeOTrCl}$ ,  $\text{iPrNEt}_2/\text{CH}_2\text{Cl}_2$ ; b:  $\text{POCl}_3$ , имидазол, пиридин; c: 1) Nu, MSNT, пиридин, 2)  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , водн. метанол.

Схема 4.

Полученные данные (табл. 1) демонстрируют высокую противовирусную активность SATE-производных и их аналогов, что обеспечивается их хорошим проникновением в клетки и быстрым ферментативным гидролизом до соответствующего dNMP. Наиболее перспективен этот подход для нуклеозидов, 5'-трифосфаты которых ингибируют вирусную полимеразу, но монофосфорилирование которых затруднено. С этой точки зрения особый интерес представляют нуклеотиды (5) [19] и (10) [23], которые на 1–2 порядка активнее, чем исходные нуклеозиды. Предполагается, что SATE-производное (5) после попадания внутрь клетки гидролизуется под действием ферментов и затем в виде ddAMP включается в синтез ddATP, минуя обычную цепь превращений, характерных для 2',3'-дидезоксиаденозина: дезаминирование  $\rightarrow$  фосфорилирование в 2',3'-дидезоксиинозинмонофосфат  $\rightarrow$  превращение 2',3'-дидезоксиинозин-5'-монофосфата в 2',3'-дидезоксиаденозин-5'-монофосфат. Эфир (5) не дезаминируется ни в одной из испытанных сред и на порядок медленнее апурицируется в глициновом буфере при pH 2, чем нуклеозид [19].

## 1.2. Циклофосфаты

Рассмотрим теперь группу циклических диэфиров dNMP, достаточно стабильных для пассивной диффузии внутрь клетки, но способных гидролизываться при физиологических значениях pH. Такими свойствами обладают шестичленные циклические эфиры dNMP [27]. Циклофосфаты тимидина (19) и 5-фтор-2'-дезоксуридина (20) [28, 29] получали фосфорилированием нуклеозидов соответствующим циклофосфорилхлоридом.

Было показано, что соединение (20) ( $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{F}$ ) легко гидролизуется в пределах pH 8–10 до 3-гидрокси-2,2-дифторпропилового эфира FdUMP, т.е. разрыв идет только по одной связи циклофосфата [29]. Все синтезированные соединения были проверены на цитостатическую активность на клетках L1210/0 и tk<sup>-</sup>-линии – L1210/BrdU. Только соединение (20) ( $\text{R}^1 = \text{R}^2 = \text{F}$ ) проявило близкую к контрольным FdU или FdUMP ингибиторную активность на клетках L1210/0 (около 0.005 мкМ). На клетках L1210/BrdU наблюдалось снижение активности всех трех веществ в 1000–1500 раз, что

Таблица 1. Анти-HIV-активность SATE- и POM-нуклеотидов (3)–(10) в культурах клеток

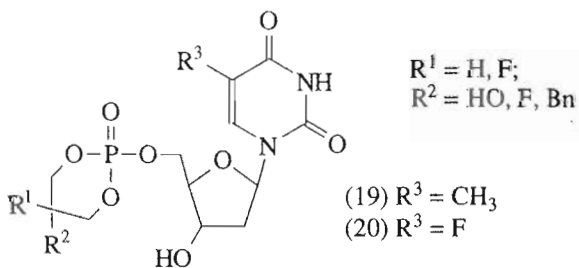
Соединение	MT-4		CEM-SS		CEM-tk <sup>-</sup>		Лит-ра
	EC <sub>50</sub>	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>	CC <sub>50</sub>	
(3a)	0.050	67	0.022	93	0.049	>100	20
(3b)	0.048	>10	0.046	>10	0.52	>10	20
(3c)	0.81	>10	0.015	>10	0.45	>10	20
(3d)	0.076	>1	0.125	>1	0.55	>1	20
(4)			5	900	4	70	17
(5)	0.011	16	0.00056	24	0.00077	10	19
(6)	3.4	>100	1.2	>100			19
(7)	>100	>100	60	>100	8	80	17
(8)	0.054	>100	0.023	>100	0.55	>100	20
(9)	0.052	59	0.077	67	0.255	65.5	20
(10)	4.75				3		23
ddU	>100	>100	>100	>100	>100	>100	17
AZT	0.0025	>0.5	0.005	>0.5	>100	>100	20
ddA	10	16	0.54	>100	1.1	>100	19
ddI	11	>100	4.3	>100			19

Здесь и далее:

EC<sub>50</sub> – концентрация (мкМ), при которой происходит 50% ингибирование репродукции вируса,

CC<sub>50</sub> – концентрация (мкМ), при которой рост клеток подавляется на 50%.

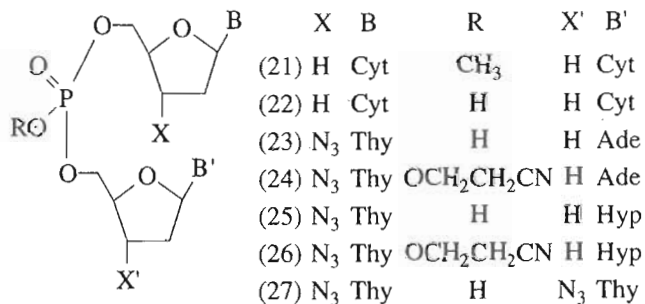
говорит о внутриклеточном превращении аналога (20) не в FdUMP, а в нуклеозид или основание.



1.3. Динуклеозидмонофосфаты

К этой группе относятся димеры, в которых нуклеозиды, обладающие противовирусными свойствами, присоединены по 5'-положениям к фосфатной группе. Авторы ожидали, что такие соединения с защищенным или свободным фосфатом будут диффундировать в клетки и, метаболизируя, высвобождать либо две молекулы нуклеозида, либо нуклеозид и мононуклеотид. Были изучены как симметричные (21), (22) [30], так и несимметричные (23)–(27) [31, 32] димеры. Во втором случае использовали нуклеозиды, к которым у ви-

руса не возникает перекрывающейся резистентности.



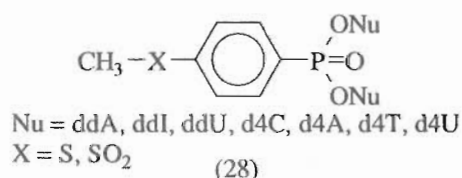
Авторы показали, что активность димеров (21)–(22) (EC<sub>50</sub> 0.5 и 0.05 мкМ соответственно по сравнению с 0.01 мкМ для ddC) объясняется разрушением динуклеозидфосфата до нуклеозидов в межклеточной среде [30]. Способность соединений (23)–(27), а также исходных нуклеозидов (AZT, ddA, ddI) и, в качестве контроля, смеси нуклеозидов AZT и ddA подавлять репродукцию HIV-1 в культуре клеток MT-2 [31] и РВМ [32] отражена в табл. 2. Результаты испытаний указывают на значительный синергический эффект применения динуклеозидфосфатов, содержащих разные нуклеозиды.

Таблица 2. Анти-HIV-активность и цитотоксичность соединений циклофосфатов (23)–(27) в культурах клеток

Соединение	MT-4		PBM*	
	EC <sub>50</sub>	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>	CC <sub>50</sub>
AZT	4.0	100	3.9–5.6	>100
ddA	7.0	400	500	>100
ddI	7.5	450	460	>100
AZT + ddA	0.6	80		
(23)	0.8	200	0.03	>100
(24)	0.7	210	0.15	>200
(25)	1	240	0.07–0.14	>100
(26)			0.34	47
(27)	1.5	60	10	16.5

\* PBM – моноциты периферической крови.

Был синтезирован ряд симметричных динуклеозидфосфатов (28) [33, 34] в виде таких производных по фосфатной группе, что их гидролиз легко протекает при физиологических значениях pH. Синтез представленных соединений проводили действием активированного N-метилимидазолом дихлорфосфата нуклеозида на нуклеозид со свободной 5'-гидроксильной группой с последующим введением в реакцию замещенного фенола. Однако все соединения (28) были примерно в 20 раз менее активны в подавлении HIV, чем исходные нуклеозиды.



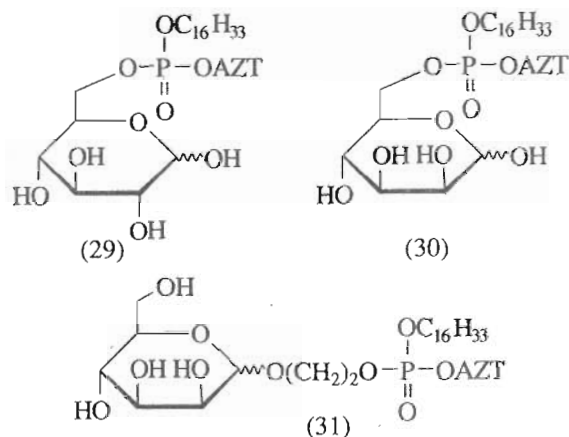
Чтобы выяснить, как влияет направление присоединения нуклеотидов друг к другу и замена фосфатного мостика фосфонатным на цитостатическую активность соединений, были синтезированы динуклеозидфосфаты, содержащие агаА и соединенные тремя возможными способами (5'-5', 3'-3', 3'-5') фосфодизфирной или метилфосфонодизфирной связями [35]. Оказалось, что рост некоторых опухолевых клеток эффективно ингибируется 3' → 5'-производными, причем активность проявляли только соединения с природной фосфатной группой.

Высокая противовирусная активность и низкая токсичность динуклеозидфосфатов (21)–(27) позволяет сделать вывод о перспективности такого подхода. Димеры, диффундируя в клетки, могут метаболизировать, высвобождая нуклеозид и нуклеотид; при этом защитная группа на фосфате, по видимому, не играет существенной роли в повышении терапевтического индекса. Видимо, динуклео-

зидфосфаты могут найти применение в специальных случаях, когда необходимо введение нуклеозидов с неперекрывающейся резистентностью, а также для регуляции внутриклеточного пула нуклеозидов.

#### 1.4. Фосфолипидные и стероидные производные нуклеозидов

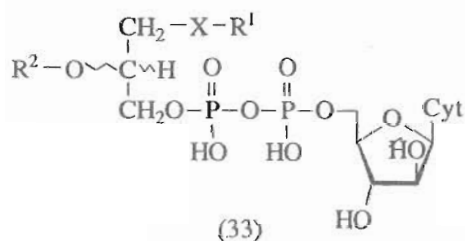
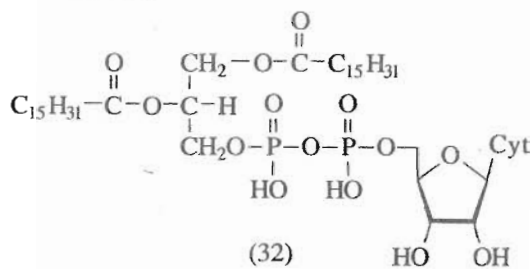
Для обеспечения эффективного транспорта dNMP через клеточную мембрану было предложено использовать фосфолипидные производные нуклеотидов. Существуют две большие группы таких производных: гликолипидные и глицеролипидные. К гликолипидным производным относятся триэфиры фосфорной кислоты, которые содержат в качестве заместителей нуклеозид, остаток D-глюкозы (29) [36, 37] или D-маннозы (30), (31) [38–40]. Методом ЯМР была показана способность фосфотриэфира (29) проникать в клетку [37]. Выбор углеводного компонента соединений (30), (31) объясняется тем, что D-манноза связывается с белками мембраны макрофагов, в которых идет активное размножение HIV. Это обеспечивает адресную доставку активного агента – AZT – к зараженным клеткам. Свободная гидроксильная группа в 6-м положении соединения (31) обеспечивает возможность его фосфотрансферного транспорта через мембрану. Фосфотриэфиры (29)–(31), несмотря на наличие гексадецильного остатка, более растворимы в воде, чем AZT. Исследования в культурах лимфоцитов СЕМ-С113, моноцитов U937 и лимфоцитов периферической крови, зараженных HIV, показали противовирусную активность фосфолипидов (29)–(31), близкую к активности AZT. Было показано, что маннозид (31) способен проникать в ткани мозга мышей; при этом концентрация AZTMP достигает 156 нмоль/г (ср.: 5 нмоль/г для AZT) [40].



Глицеролипидные производные нуклеотидов можно разделить на эфиры моно- и дифосфатов нуклеозидов. Идея создания таких производных

основана на данных о том, что в процессе метаболизма дипальмитоил-*L*-глицеринового производного CDP (32), являющегося предшественником некоторых компонентов клеточных мембран, выделяется свободный CDP.

В ходе поиска соединений с потенциальным противоопухолевым действием был получен ряд диацилглицериновых производных агаCDP (33) в виде рацемической смеси [41–46] и индивидуальных стереоизомеров [42, 43, 47–49]. Синтез осуществляли конденсацией 1,2-дизамещенного глицерина с активированным морфолином агаCDP [43, 44, 46–48].



X = O, S  
 $\text{R}^1, \text{R}^2 = \text{C}(\text{O})\text{C}_m\text{H}_{2m+1}$  или  $\text{C}_n\text{H}_{2n+1}$   
 $m = 11, 13, 15, 17, n = 10, 12, 14, 16, 18$

Синтез глицеролипидных производных NMP (34) проводили либо путем конденсации нуклеозида с глицерофосфатом (35) [46, 50], либо используя реакцию переноса остатка фосфатидиловой кислоты с фосфатидилхолина (36) на нуклеозид под действием фосфолипазы D [51] (схема 5).

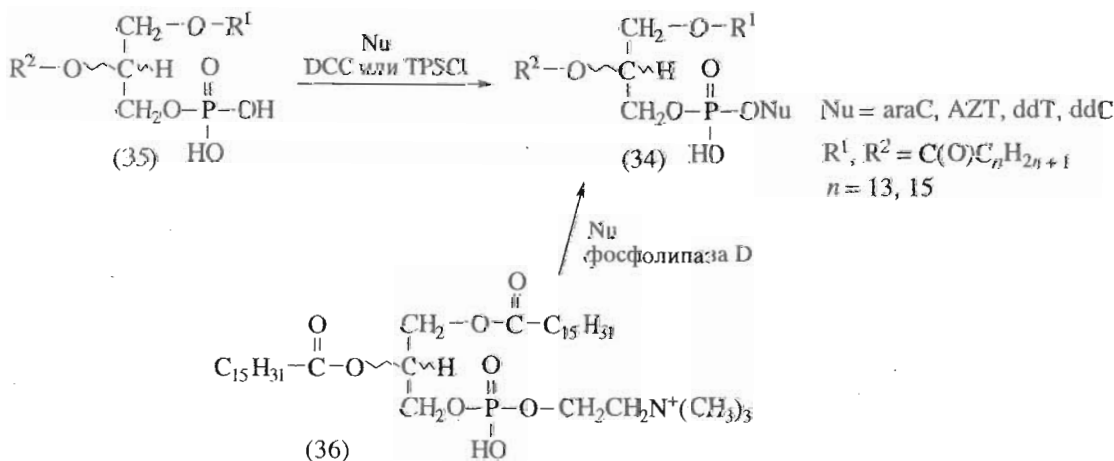
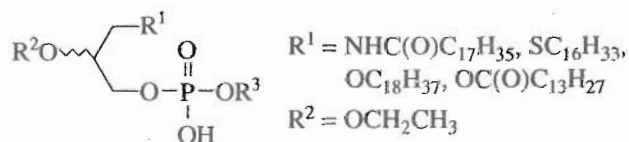


Схема 5.

В 1991 г. Пиантадоси с сотр. были синтезированы глицеролипиды (37), которые проявили значительную анти-HIV-активность. Механизм их противовирусного действия, по-видимому, заключается в нарушении сборки вирусной капсулы. Ими же были получены монофосфатные конъюгаты (38) этих липидов и противовирусных нуклеозидов ddA и ddI [52]. Синтез проводили путем фосфорилирования соответствующих диалкил- или амидоалкилглицеринов с последующим присоединением к полученному фосфоэфир у нуклеозида в присутствии DCC.



(37)  $\text{R}^3 = \text{CH}_2\text{CH}_2\text{N}^+(\text{CH}_3)_3$   
 (38)  $\text{R}^3 = \text{ddA}, \text{ddI}$

Испытания липидных конъюгатов нуклеотидов на противоопухолевую или противовирусную активность выявили некоторые закономерности:

а) *in vitro* липидные производные проявляют меньшую анти-HIV-активность, чем исходные нуклеозиды; исключение составляют только производные ddT;

б) *in vivo* монофосфаты проявляют противоопухолевую активность, в 1.5 раза, а дифосфаты – в 3–4 раза большую, чем соответствующие нуклеозиды; была продемонстрирована способность конъюгатов преодолевать гематоэнцефалический барьер;

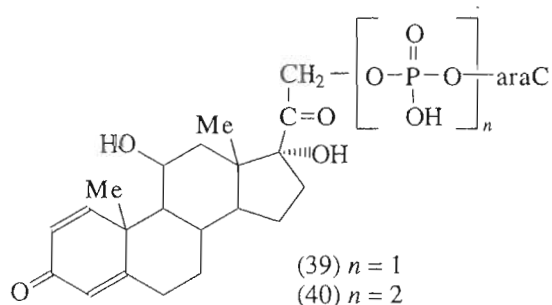
в) противоопухолевая активность производных агаC *in vivo* находится в прямой зависимости от устойчивости к действию цитидиндезаминазы и способности образовывать комплексы с липопротеинами крови. Конъюгаты, обладающие такими свойствами, становятся более биодоступными и

менее подверженными различным специфическим разрушениям;

г) активность проявляют только производные *L*-глицеролипидов (или рацематы);

д) липидные конъюгаты нуклеотидов хорошо проникают внутрь клеток.

К другой группе нуклеотидных конъюгатов относятся стероидные производные араСМР (39) [53, 54] и араСДР (40) [55]. Работы в этом направлении были инициированы обнаружением синергического эффекта применения преднизолона и ряда препаратов против лимфоидных лейкозий и лимфом человека.



Аналогичные соединения получены с кортизолом, кортизоном, кортикостероном, преднизолом, фторкортизолом, дексаметазоном

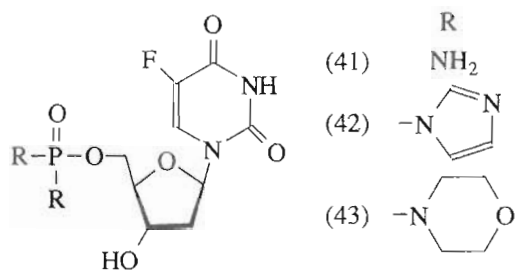
Стероидные производные араСМР и араСДР обладают свойствами, близкими к глицеролипидным: медленно гидролизуются в крови, не дезаминируются, преодолевают гематоэнцефалический барьер. В отличие от глицеролипидов активность нуклеотидных аналогов (39) и (40) *in vitro* и *in vivo* близка к активности араС или несколько превосходит ее, за исключением производных фторкортизола и дексаметазона. Монофосфатные производные (39) несколько активнее дифосфатных (40). Подробно противоопухолевые свойства стероидных конъюгатов нуклеозидов рассмотрены в обзоре [55].

## 2. АМИДЫ НУКЛЕОЗИДМОНОФОСФАТОВ

Синтез и биологические исследования амидов НМР шли параллельно описанным выше работам по эфирным производным. Для амидов нуклеоти-

дов сохраняются те же требования, что и для эфиров: сочетание гидрофобности, облегчающей диффузию через клеточную мембрану, и способности метаболизировать в клетке до соответствующего монофосфата нуклеозида.

В отличие от эфиров фосфатов, которые, как правило, нестабильны в присутствии основания, фосфамиды гидролизуются в кислой среде, при этом скорость гидролиза зависит от заместителя при атоме азота. Так, фосфамиды (41)–(43) заметно различались по скорости гидролиза [56].



Время полугидролиза соединения (41) в 3 и 25 раз меньше времени полугидролиза соединений (42) и (43) соответственно [56]. Способность этих соединений ингибировать рост опухолевых клеток L5178Y в культурах падает в этом ряду от 45% для амида (41) до 16% для имидазолида (42) и 11% для морфолида (43) при концентрации нуклеотидов  $10^{-8}$  М. Контрольный FdUMP при этой концентрации ингибировал рост клеток на 67%. Только амид (41) проявил достаточно высокую противоопухолевую активность ( $IC_{50}$  2.0 мкМ), сравнимую с активностью FdU и FdUMP (0.76 и 1.4 мкМ) [56].

Интересны примеры, когда в качестве аминокислоты использовались различные аминокислоты, защищенные по карбоксилу [10, 57–59]. Авторы предполагали, что находящаяся в инфицированных HIV клетках вирусная протеиназа будет расщеплять фосфамидную связь, высвобождая монофосфат AZT или FLT. Моноамиды (44) синтезировали действием фосфорилирующего реагента (45) на нуклеозид в присутствии N-метилимидазола (схема 6). Полученные соединения различаются по липофильности, по способности эфира фосфата гидролизываться и по размерам заместителя при аминогруппе, который может влиять на

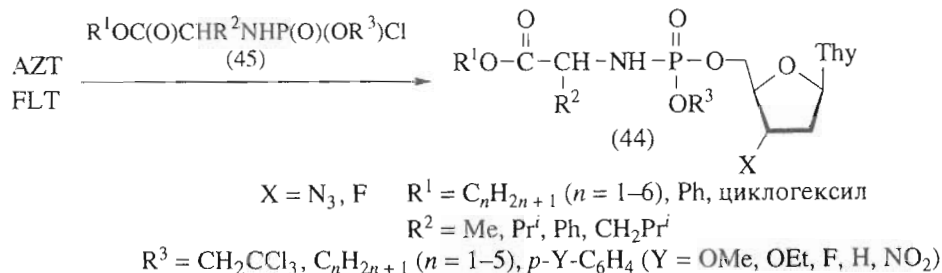


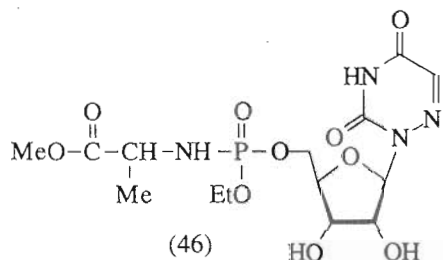
Схема 6.



гидролитическую активность протеиназы HIV. Все соединения оказались гораздо менее активными против HIV, чем FLT и AZT. Только соединение (44) ( $X = N_3$ ,  $R^3 = CH_2CCl_3$ ,  $R^1 = R^2 = Me$ ) по своей активности оказалось близким к исходному нуклеозиду в культуре клеток C8166 [10].

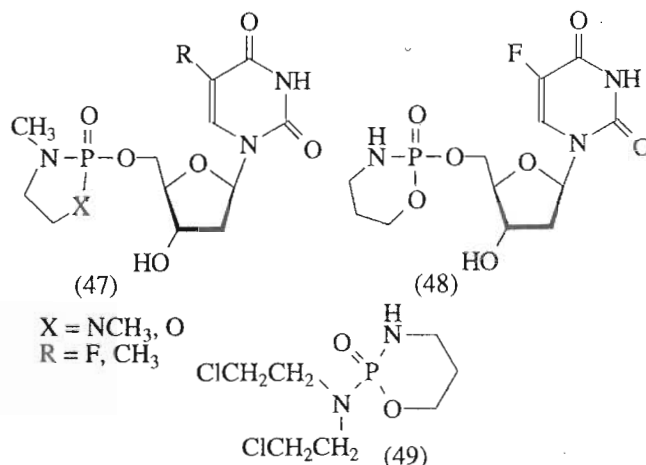
Следует отметить, что в культуре лимфобластоидных клеток человека JM [59], в которых затруднено фосфорилирование тимидина, соединения (44) ( $X = N_3$ ,  $R^3 = p\text{-}YC_6H_4$  ( $Y = OMe, Et, F, H$ ),  $R^1$  и  $R^2 = Alk$ ) значительно активнее, чем исходный нуклеозид AZT. Это может быть обусловлено внутриклеточным гидролизом этих производных до AZTMP. Таким образом, указанные аналоги можно рассматривать как депо-формы AZTMP, хотя неясно, действительно ли катализатором этого процесса является вирусная протеиназа.

Такого же рода производные были получены для 6-азауридина, но лишь соединение (46) оказалось активнее исходного нуклеозида при испытаниях *in vivo* против ряда РНК-содержащих вирусов [60].



В ряду циклических фосфамидов было предложено несколько соединений, содержащих пя-

ти- [61, 62] и шестичленные циклы [63, 64], соответственно соединения (47) и (48).



Среди пятичленных фосфамидов активных соединений обнаружено не было. Предпосылками для синтеза шестичленного фосфамида (48) как цитостатического соединения явились противоположные свойства циклофосфида (49), в результате метаболизма которого образуется активное начало – диамид фосфорной кислоты [63]. Как полагает ряд исследователей, циклическая структура, снимая заряд фосфатной группы, позволяет этой молекуле проникать в клетки. Предполагаемый метаболизм фосфамида (48) представлен на схеме 7. Под действием цитохром-Р-450-зависимой оксидазы происходит гидроксигирование С4-атома цикла с образованием 4-гидроксициклофосфамида (50а), который находится в таутомерном

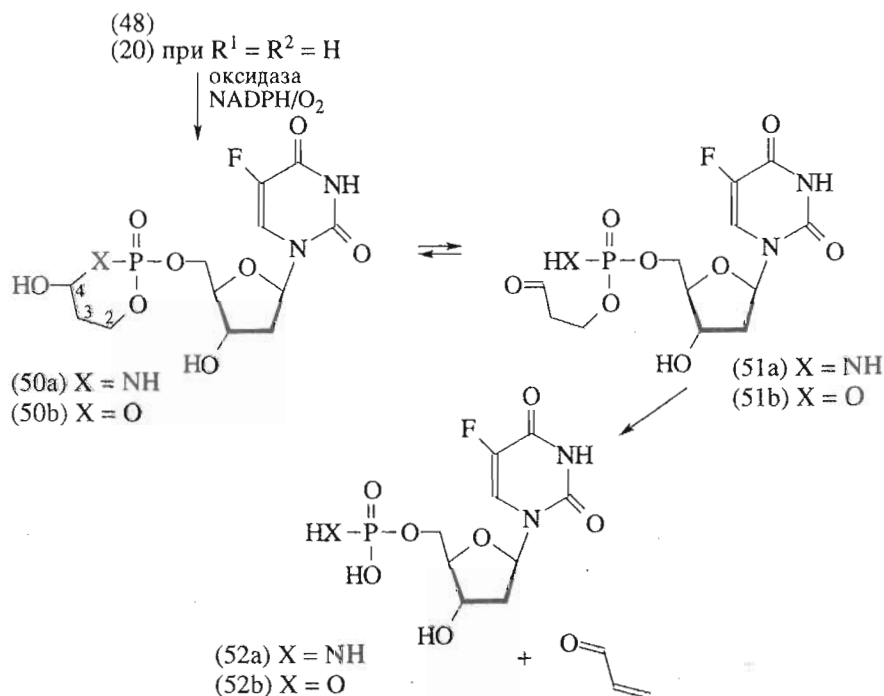


Схема 7.

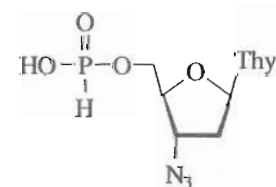
равновесии со своей открытой формой – альдо-фосфамидом (51a). Последний, в свою очередь, может подвергаться спонтанному разложению на акролеин и амид FdUMP (52a) [63]. Аналогичные превращения претерпевает циклический эфир (20), который превращается в FdUMP [29]. Соединения (48) и (20) демонстрируют на клетках P-388 и P-388/FdU активность несколько меньшую, чем активность FdU в культуре, чувствительной к этому агенту. В культуре клеток P-388/FdU, резистентной к FdU, соединения (48) и (20) активности не проявили.

Итак, мы рассмотрели защищенные по фосфатной группе аналоги dNMP, среди которых были найдены активные и высокоактивные соединения. Изучение молекулярного механизма действия показало, что эфиры и амиды dNMP в клетке являются предшественниками нуклеозид-5'-монофосфатов или нуклеозидов и подвергаются превращению по пути А или В соответственно.

### 3. ФОСФИТЫ И ФТОРФОСФАТЫ НУКЛЕОЗИДОВ

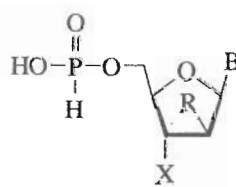
#### 3.1. Фосфиты нуклеозидов

В последние годы внимание ряда исследовательских групп привлекли 5'-фосфиты (5'-Н-фосфонаты) и фторфосфаты нуклеозидов. Первым синтезированным и изученным в качестве антималярия Н-фосфонатом был Н-фосфонат AZT (53). Он был получен конденсацией AZT с фосфорилтриимидазolidом, приготовленным *in situ* из трихлорида фосфора, с последующим гидролизом [65]. Другим возможным фосфитилирующим агентом является трис(1,1,1,3,3,3-гексафтор-2-пропил)фосфит [66–68]. Н-Фосфонаты могут быть получены прямой конденсацией нуклеозида с фосфористой кислотой в присутствии DCC, TPSCl или MSNT [65, 69, 70].



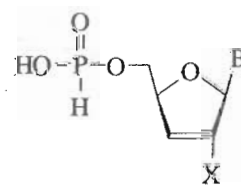
(53)

[65, 67, 69, 71]



(54)

- a) B = Thy, Ura, Cyt, [67]  
Gua, Ade, X = N<sub>3</sub>, R = H
- b) B = Thy, X = F, [67]  
R = H
- c) B = Thy или Ade, [72]  
X = Cl, R = H
- d) B = Thy, Ura, Cyt, [67],  
Gua, Ade, X = H, R = OH [73]



(55)

- a) B = Thy, Cyt, [67]  
Ura, X = H
- b) B = Thy, X = F [67]

Следует отметить, что все фосфонаты, показавшие противовирусную активность, являлись производными нуклеозидов, обладающих антиретровирусными свойствами. Наиболее интересными оказались Н-фосфонаты (53), (54a) (B = Ade, Gua, Cyt) и (54b). Испытания показали, что Н-фосфонаты, как правило, несколько менее активны, чем родительские нуклеозиды, но в то же время и

менее токсичны. Это приводит к тому, что их индекс селективности (SI) близок или выше индекса селективности соответствующих нуклеозидов (табл. 3). Было показано также, что Н-фосфонат (53) эффективно защищает инфицированные клетки от действия вируса в концентрациях от 0.3 до 3.0 мкМ, обеспечивая сохранение более 50% инфицированных клеток [74]. Значительным

Таблица 3. Противовирусный эффект и цитотоксичность 5'-Н-фосфонатов в культуре клеток МТ-4

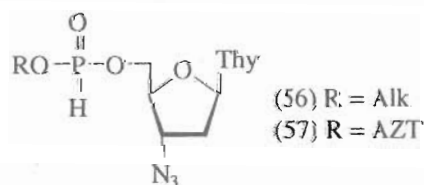
Соединение	CC <sub>50</sub>	EC <sub>50</sub>	SI*
(53)	174 [74], 2500 [67], 102 [69]	0.12 [74], 0.072 [67], 0.03 [69]	1450 [74], 34700 [67], 3400 [69]
AZT	84 [74], 154 [67], 72 [69]	0.013 [74], 0.005 [67], 0.06 [69]	6462 [74], 30800 [67], 1200 [69]
(54b)	123 [74], >500 [67]	0.13 [74], 0.088 [67]	946 [74], >56000 [67]
FLT	89 [74], 190 [67]	0.0029 [74], 0.069 [67]	30690 [74], 27530 [67]

\* SI – индекс селективности – отношение токсичности препарата к его активности (CC<sub>50</sub>/EC<sub>50</sub>).

ингибирующим HIV-действием обладали также Н-фосфонаты (54a, d) (B = Ade, Gua, Cyt) [69, 67, 73].

Чтобы исследовать механизм молекулярного действия, была изучена стабильность Н-фосфоната (53) к действию дефосфорилирующих ферментов. Было показано, что он гидролизуется фосфатазами из плаценты человека и кишечника теленка, а также щелочной фосфатазой *E. coli* значительно медленнее, чем AZTMP [75, 76]. Инкубация Н-фосфонатов с сывороткой крови человека сопровождалась их медленным гидролизом до соответствующих нуклеозидов, хотя авторы не исключают возможности медленного предварительного окисления Н-фосфонатов до соответствующих монофосфатов, которые в свою очередь быстро гидролизуются до нуклеозидов. Таким образом, их метаболизм в сыворотке крови идет по пути В (схема 1) [75]. При инкубации клеток с фосфонатом (53) было обнаружено накопление внутри клеток AZTMP. Это позволило авторам [76] сделать вывод о том, что в культуре клеток фосфонат (53) служит предшественником AZTMP [76]. Однако опыты на животных показали, что 90% фосфоната (53) в крови кролика превращается в AZT, половина которого выводится из организма за 3 ч. Для AZT этот показатель составляет 50 мин (данные ВКНЦ РАМН). Таким образом, Н-фосфонат AZT является предшественником нуклеозида. Хорошие фармакологические параметры фосфоната (53) позволяют рассматривать его как потенциальный противовирусный препарат, который может найти практическое применение в лечении HIV-инфекций.

Действием соответствующего дихлорангидрида алкилфосфористой кислоты на AZT в присутствии N-метилимидазола были получены эфиры Н-фосфоната AZT (56) [77] и динуклеозидное производное (57), которое синтезировали из фосфористой кислоты, активированной пивалоилхлоридом, и 2 экв. AZT [71].

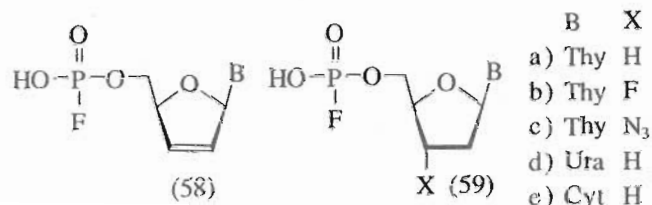


Эфиры (56), (57) оказались более активными против HIV в культуре клеток C8166, чем свободный Н-фосфонат AZT, и неактивными, так же как AZT и его Н-фосфонат, при испытаниях на клетках JM [71]. Повышенная активность эфиров Н-фосфонатов, по-видимому, связана с устранением заряда на фосфоре, что обеспечивает лучшее проникновение этих соединений внутрь клетки. Динуклеозид-Н-фосфонат (57) проявил активность против HIV-1, среднюю между активностями Н-фосфоната AZT (53) и самого AZT. В культуре клеток СИМ-4к<sup>-</sup> диэфир (57) оказался неак-

тивным. Показано, что в бычьей сыворотке и клеточном экстракте такой диэфир быстро распадается на AZT и его Н-фосфонат, который затем медленно (33 ч) дефосфорилируется в сыворотке и довольно быстро (70 мин) в клеточном экстракте [71]. Таким образом, эфиры, как и Н-фосфонат, являются депо-формами AZT.

### 3.2. 5'-Фторфосфаты нуклеозидов

Интерес к фторфосфатам был обусловлен высокой противовирусной активностью Н-фосфонатов. Существует несколько методов синтеза фторфосфатов. Так, они могут быть получены обработкой dNMP 2,4-динитрофторбензолом [78, 79] или бензоилфторидом [80]. В тионфосфатной группе атом серы [81], а в фосфитной триметилсилильная группа [82, 83] могут быть замещены на фтор действием SO<sub>2</sub>ClF. Однако большинство фторфосфатов, в том числе обладающие анти-HIV-активностью (58), (59), были получены конденсацией нуклеозида с фторфосфорной кислотой в присутствии DCC [84], TPSCl или MSNT [85, 86].



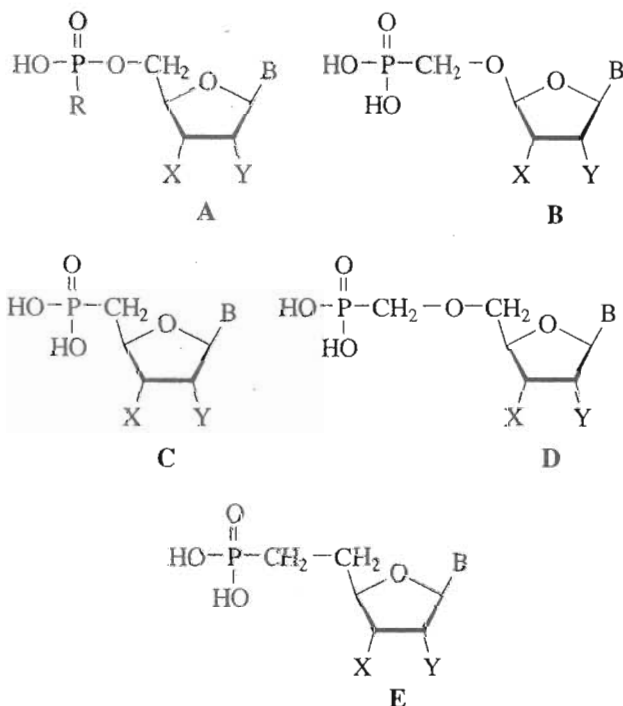
Анти-HIV-активность в культуре клеток нуклеотида (59c) была выше, чем у исходного AZT, а у фторфосфатов (58), (59b) и (59e) – близкая к исходным нуклеозидам [86]. Следует отметить, что токсичность фторфосфатов близка к токсичности исходных нуклеозидов, так что индекс селективности фторфосфатов (59) и (59c) оказался в 2 раза выше, чем для соответствующих нуклеозидов. Это позволяет рассматривать фторфосфаты нуклеозидов как перспективные противовирусные соединения.

Исследование стабильности фторфосфатов показало, что они устойчивы к действию фосфатазы и медленно дефосфорилируются нуклеотидазами и фосфодиэстеразой змеиного яда [87]. В сыворотке крови человека фторфосфаты (59b, c) гидролизуются до соответствующих монофосфатов, которые в свою очередь дефосфорилируются до нуклеозидов [88]. Фторфосфаты можно считать предшественниками как dNTP (схема 1, путь А), так и нуклеозидов (путь В). Реальные пути их превращения зависят от скорости их диффузии в клетку и соотношения активности ферментов гидролиза и фосфорилирования в клетке.

В следующей части обзора будут рассмотрены соединения с негидролизуемой Р-С-связью, которые, не являясь пронуклеотидами, способны имитировать dNMP в клетке.

## 4. ФОСФОНАТЫ НУКЛЕОЗИДОВ

Рассмотрим еще один класс нуклеотидных соединений, в которых фосфатная группа заменена остатком фосфоновой кислоты. Нуклеотидные производные такой природы можно разделить на пять основных групп:



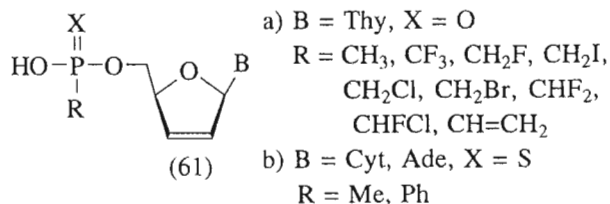
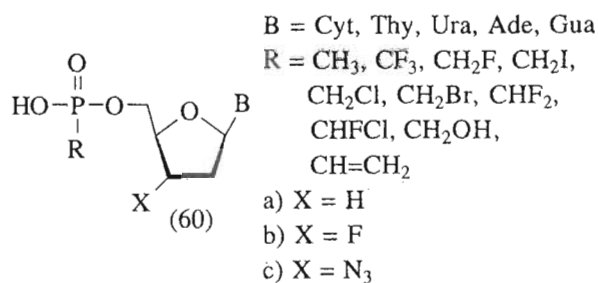
Интерес к подобным соединениям обусловлен высокой стабильностью к химическому и ферментативному гидролизу простой эфирной связи в соединениях D, ацетальной – в соединениях B или алкильной цепи в соединениях C и E, а также фосфоэфирной связи в соединениях A. Замена 5'-фосфатной группы на фосфонатную уменьшает вероятность утилизации подобного рода соединений в многочисленных метаболических путях внутри клетки, что позволяет ожидать уменьшения их цитотоксичности.

Фосфонатный подход получил большое распространение в синтезе нуклеотидов, у которых углеводный остаток заменен на циклопентановый [89, 90], циклобутановый [91, 92] или ациклический остаток [3, 93, 94]. В данном обзоре, однако, мы не будем рассматривать такие производные.

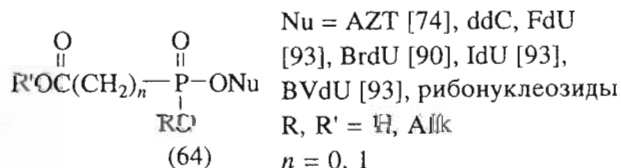
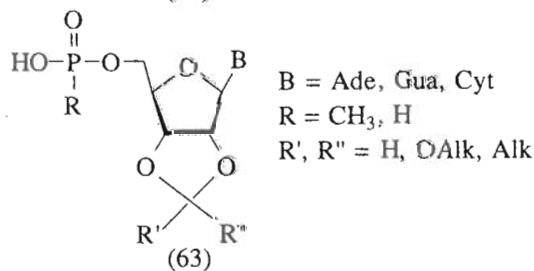
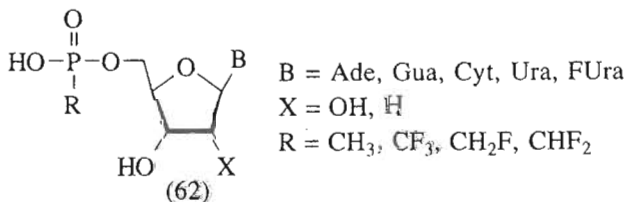
## 4.1. Нуклеозид-5'-фосфонаты, содержащие фосфоэфирную связь (тип A)

Проблемы синтеза фосфонатов типа A сводятся к активации фосфоновой кислоты в реакции конденсации ее с нуклеозидом. В ранних работах в качестве конденсирующего агента использовался DCC [95–97]. Позднее его заменили арилсульфохлориды [98–100], а также хлорангидри-

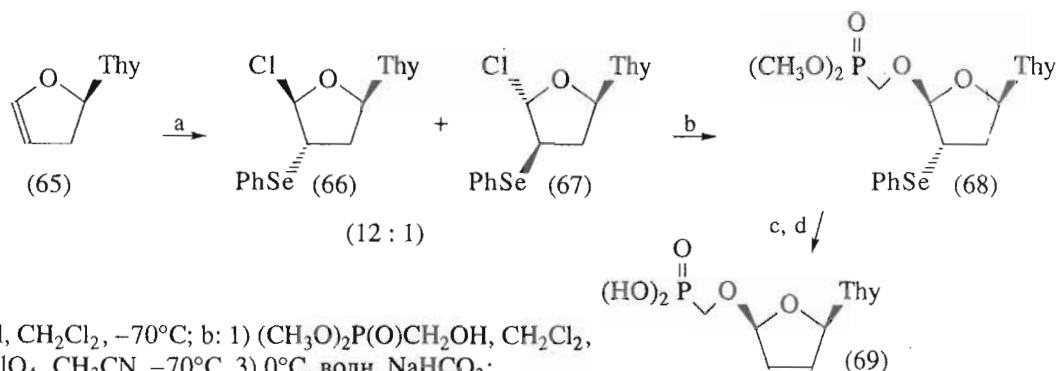
ды [101–105] или триазолиды [106] фосфоновых кислот.



Были получены алкил, галогеналкил, гидроксиметил- и винилфосфонатные производные ddN (60a) [67, 73], FLT (60b) [86], AZT (60c) [67, 106, 107], d4N (61a) [100] и (61b) [106], а также рибонуклеозидов (62) [108] и 2',3'-защищенных рибонуклеозидов (63). Интересно, что последние оказались умеренно активными в подавлении репродукции HIV в культуре клеток [70], т.е. играли роль 2'-дезоксинуклеотидов.



Большая часть фосфонатов (60)–(64) не проявила какой-либо заметной противовирусной активности при испытаниях в клеточных культурах, демонстрируя меньшую токсичность при значительно меньшей активности сравнительно с исходными нуклеозидами. Производные (64) фосфоноксусной ( $n = 1$ ) и фосфономуравьиной кислоты ( $n = 0$ ) [98] подавляли репродукцию вирусов



a: PhSeCl, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -70°C; b: 1) (CH<sub>3</sub>O)<sub>2</sub>P(O)CH<sub>2</sub>OH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,  
2) AgClO<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>CN, -70°C, 3) 0°C, водн. NaHCO<sub>3</sub>;  
c: 1) NaIO<sub>4</sub>, 2) вода; d: 1) Me<sub>3</sub>SiBr, 2) NaHCO<sub>3</sub>.

Схема 8.

герпеса HSV-1 и HSV-2, причем наиболее активны были производные BrdU [99]. При испытаниях на мышах эфиры карбоксифосфонатов оказались более активны против HSV-1, чем свободные кислоты [109]. Карбоксифосфонат AZT (64) (Nu = AZT, *n* = 0, R = R' = H) [74] эффективно подавлял репродукцию HIV в культуре клеток; коэффициент селективности этого соединения оказался выше, чем у исходного нуклеозида AZT.

Можно обсуждать две возможности метаболизма фосфонатов типа А. Они могут дефосфорилироваться и превращаться в соответствующие нуклеозиды, хотя инкубация фосфонатов (60) (B = Thy, X = N<sub>3</sub>, R = CH<sub>3</sub>) и (64) (Nu = ddT, AZT, *n* = 0, R = R' = H) с различными фосфатазами показала их высокую гидролитическую стабильность [88]. Можно также предположить, что фосфонаты имитируют dNMP, превращаясь в фосфонатдифосфатное производное, являющееся субстратом ДНК-полимеразы (схема 1, путь С). В настоящее время нет данных о возможности ферментативного фосфорилирования фосфонатов типа А, но химическим путем были синтезированы 5'-(α-алкилфосфонил)-β,γ-дифосфаты тимидина, AZT и FLT с алкильными радикалами CH<sub>3</sub> [110], C<sub>6</sub>H<sub>5</sub> и CH<sub>3</sub>(CH<sub>2</sub>)<sub>9</sub> [111]. Такие α-модифицированные трифосфаты проявляли субстратные свойства по отношению к обратной транскриптазе HIV – фосфонатный остаток включался в растущую цепь ДНК один (в случае AZT и FLT) или несколько раз (в случае тимидина), после чего синтез модифицированной ДНК прекращался.

#### 4.2. Изостерические фосфонаты нуклеозидов (тип В)

Следующий тип фосфонатов (тип В) представляет собой семейство изостерных аналогов нуклеозидмонофосфатов, т.е. соединений, у которых расстояние между основанием и атомом фосфора близко к таковому для природных нуклеотидов, что повышает вероятность получения активных соединений. К настоящему времени известно лишь

несколько соединений этого типа, что связано со значительными синтетическими трудностями. Ключевой стадией синтеза фосфонатов является электрофильное присоединение к двойной связи фуранозилгликалей (65) (схема 8), протекающее с высокой стерео- и региоспецифичностью [112]. При этом электрофильная (фенилселенильная) группа присоединяется в 3'-положение фуранозного цикла, а нуклеофильная (хлорид) – в 4'-положение с образованием смеси изомеров (66, 67) в соотношении 12 : 1. Диметил(гидроксиметил)фосфонат в присутствии перхлората серебра реагировал с фенилселенильным производным (66) с выходом 41%. После окислительного элиминирования фенилселенильной группы нуклеотида (68) действием периодата натрия и гидролиза был получен фосфонатный изостер d4TMP (69).

Аналогичным образом были синтезированы изостеры d4AMP (70) [112], монофосфата 2',3'-дидезокси-2',3'-дидегидро-2,4-диаминопурина (71) [113]. Каталитическое гидрирование фосфоната (70) привело к фосфонату (72) – изостеру ddAMP [112].

Синтезированные фосфонаты (69)–(71) были исследованы в культуре клеток МТ-4 на способность подавлять репродукцию вирусов HIV и вируса мышинного лейкоза (R-MuLV) [112, 113] (табл. 4). Изостеры оказались значительно активнее d4T против вируса мышинного лейкоза, и некоторые соединения проявили высокую активность против

Таблица 4. Противовирусная активность и цитотоксичность соединений (69)–(71) в культуре клеток МТ-4

Вирусы и клетки	EC <sub>50</sub>				
	(69)	(70)	(71)	d4T	РМЕА*
R-MuLV	0.6	0.003	–	2.5	–
HIV-1	12.0	1.5(4.3)	82.5	1.2	6.5
MT-4	>600	>600	>100	>600	40

\* РМЕА – фосфонометоксиэтиладенин.

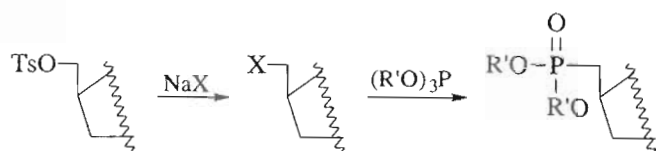
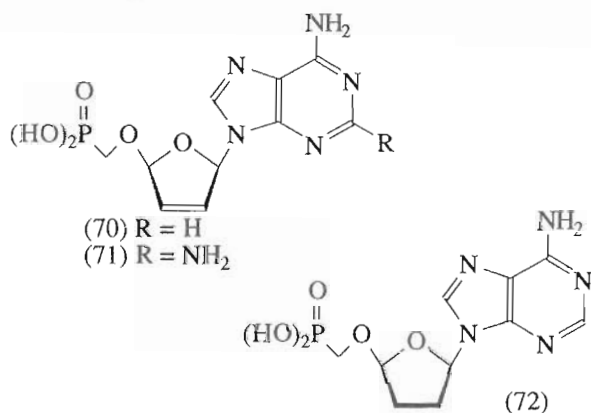


Схема 9.

HIV-1. Таким образом, в этом ряду были найдены соединения, по активности иногда превосходящие исходные нуклеозиды.

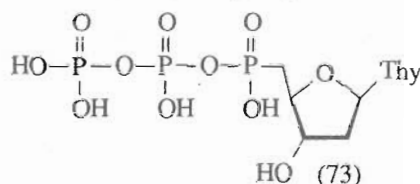


#### 4.3. Фосфонаты типа С

Синтез соединений этого типа основан на реакции Арбузова между триалкилфосфитом и алкилгалогенидом. В качестве алкилгалогенида выступает 5'-галоген-5'-дезоксинуклеозид, образующийся при реакции 5'-О-тозилированного нуклеозид с галогенидом натрия [114, 115] (схема 9). Аналогичным образом были получены фосфонатные производные метилрибозида [116] и 2-дезоксиметилрибозида [117], конденсация которых с нуклеиновым основанием приводит к соответствующим фосфонатам нуклеозидов.

Испытания в культуре клеток показали, что фосфонаты типа С не проявляют заметной цитостатической или противовирусной активности. Отсутствие активности можно объяснить тем, что пиррофосфатные производные нуклеотидов типа С не узнаются ДНК-полимеразами из-за изменения расстояния между гетероциклическим основанием и P<sup>α</sup>-атомом. Это было показано на примере трифосфатного аналога (73) [114]. Видимо, изменение этого расстояния сильно влияет на субстратные свойства модифицированного трифосфа-

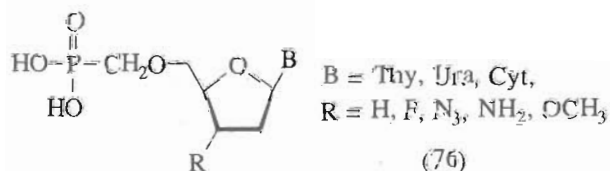
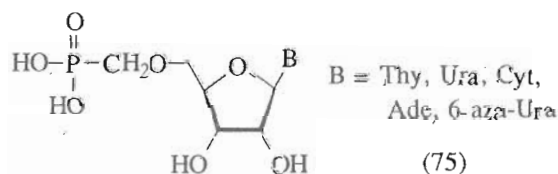
та и, следовательно, на биологическую активность соответствующего фосфоната.



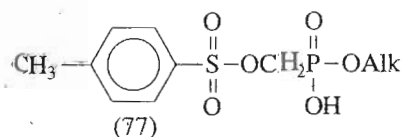
#### 4.4. Фосфонаты нуклеозидов типа D

Существенный вклад в разработку методов синтеза фосфонатов этого типа был сделан Холи и соавт. Следует отметить, что наиболее активные противовирусные соединения в этом ряду являются производными ациклических нуклеозидов [3, 94], мы же рассмотрим рибо- и дезоксирибофуранозильные производные [118] (схема 10).

Образование фосфоната происходит в результате нуклеофильного замещения тозилльной группы диалкилтозидоксиметилфосфоната (74) получающимся под действием гнирида натрия 5'-алкоголятом нуклеозида. Таким образом были синтезированы фосфонаты рибонуклеозидов (75) [118] и 3'-модифицированных 2'-дезоксирибонуклеозидов (76) [119].



Было предложено использовать в качестве фосфонилирующего реагента монометилловый эфир (77), что приводит к увеличению выхода целевого продукта [120].



Фосфонаты (75) и (76) не проявили в культуре клеток значительной противовирусной активности.

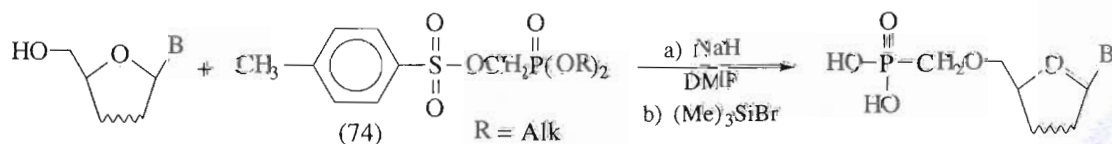
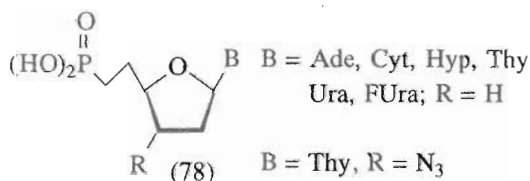


Схема 10.

и их токсичность оказалась значительно ниже токсичности исходных нуклеозидов. Наиболее активные фосфонаты AZT и FLT (76) ( $EC_{50}$  0.9 и 1.3 мкМ соответственно) в 1000 раз хуже подавляли репродукцию HIV-1 в культуре клеток MT-4 по сравнению с исходными нуклеозидами [119]. По-видимому, в данном случае, как и у фосфонатов типа С, решающую роль в наблюдаемом уменьшении активности играет изменение расстояния между нуклеиновым основанием и атомом фосфора. В другой работе показано, что 5'-О-метиленфосфонат AZT в культуре клеток H9 обладает примерно равной с AZT противовирусной активностью и меньшей токсичностью [65].

#### 4.5. Фосфонаты нуклеозидов типа E

Фосфонаты типа E являются аналогами dNMP, у которых атом кислорода в положении 5' заменен на метиленовое звено, при этом расстояние между основанием и  $\alpha$ -атомом фосфора близко к таковому природных нуклеотидов. Мы не будем подробно рассматривать синтез соединений (78), так как ни одно из них не проявило значительной противовирусной или противоопухолевой активности, а трифосфатные аналоги не обнаружили субстратных или ингибиторных свойств по отношению к обратной транскриптазе HIV. Можно лишь отметить, что существует три подхода к синтезу таких соединений: реакция Виттига-Хорнера 5'-карбонил-5'-дезоксинуклеозида [121] с последующим восстановлением двойной связи [122–125]; расщепление оксетанового цикла 3',5'-ангидротимидина [126] и свободнорадикальное присоединение 3'-защитенной тимидинуроновой кислоты к диэтиловому эфиру винилфосфоновой кислоты [127].



#### ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Мы рассмотрели различные подходы к созданию пронуклеотидов с цитостатическим или противовирусным действием. Прежде всего следует отметить, что имеют смысл лишь модификации таких нуклеозидов или нуклеотидов, трифосфатные аналоги которых являются субстратами вирусных или клеточных ДНК-полимераз. При этом наиболее перспективны трифосфаты, избирательно узнаваемые той или иной ДНК-полимеразой.

Хорошими противоопухолевыми свойствами обладают стероидные производные araC. Наиболее перспективными противовирусными агента-

ми показали себя SATE-эфиры (3)–(5), Н-фосфонаты (53), (54b) и изостерические фосфонаты нуклеозидов (70)–(72). Н-Фосфонат AZT (53) прошел все доклинические испытания по правилам Фармакологического комитета РФ и передан в настоящее время на клинические испытания.

Исследования метаболизма синтезированных соединений показали, что они могут превращаться в нуклеозид-5'-монофосфат (путь А, схема 1), в нуклеозид (путь В) или превращения происходят по смешанному механизму. Реальные пути метаболизма зависят от стабильности вещества в межклеточной среде, его способности проникать в клетку, субстратных свойств по отношению к дефосфорилирующим и фосфорилирующим ферментам. В ряде случаев соединения, метаболизирующие по пути В и, следовательно, являющиеся предшественниками нуклеозидов, менее токсичны, чем исходные нуклеозиды. Это можно объяснить тем, что основная масса вещества выведена за рамки многочисленных метаболических путей, присущих нуклеозидам. Таким образом, рассмотренные модифицированные фосфаты нуклеозидов представляются нам перспективными терапевтическими агентами цитостатического или противовирусного действия.

#### СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Krayevsky A.A., Watanabe K. // *Modified Nucleosides as Anti-AIDS Drugs: Current Status and Perspectives*. M.: Bioinform, 1993. P. 98–125.
2. Jons R.J., Bischofberger N. // *Antiviral Res.* 1995. V. 27. P. 1–17.
3. Alexander P., Holy A. // *Collect. Czech. Chem. Commun.* 1994. V. 59. P. 2127–2165.
4. Rosowsky A., Kim S.-H., Ross J., Wick M.M. // *J. Med. Chem.* 1982. V. 25. P. 171–178.
5. Hong C.H., Kirisits A.J., Nechaev A., Buchheit D.J., West C.R. // *J. Med. Chem.* 1985. V. 28. P. 171–177.
6. Colin B., Jones N.M., McGuigan C., Riley P.A. // *Nucl. Acids Res.* 1989. V. 17. P. 7195–7201.
7. McGuigan C., Tollerfield S.M., Riley P.A. // *Nucl. Acids Res.* 1989. V. 17. P. 6065–6075.
8. McGuigan C., Shachleten J.M., Tollerfield S.M., Riley P.A. // *Nucl. Acids Res.* 1989. V. 17. P. 10171–10177.
9. McGuigan C., Colin B., Jones N.M., Riley P.A. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1991. V. 1. P. 607–610.
10. McGuigan C., Colin B., Jones N.M., Devine K.G., Nichols S.R., O'Connor T.J., Kinchington D. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 1991. V. 1. P. 729–732.
11. McGuigan C., O'Connor T.J., Nichols S.R., Nickson C., Kinchington D. // *Antiviral Chem. Chemother.* 1990. V. 1. P. 355–360.
12. McGuigan C., Kinchington D., Meng Pang Wang, Nicholls S.R., Nickson C., Galpin S., Jeffries D.J., O'Connor T. // *FEBS Lett.* 1993. V. 322. P. 249–252.

13. Mitsuya H., Weinhold K., Furman P.A., St. Clair M.H., Nusinoff-Lehrman S.N., Gallo R.C., Bolognesi D.P., Barry D.W., Broder S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1985. V. 82. P. 7096–7100.
14. Herdewijn P., Balzarini J., De Clercq E., Pauwels R., Baba M., Broder S., Vanderhaedhe H. // J. Med. Chem. 1987. V. 30. P. 1270–1278.
15. Mitsuya H., Broder S. // Proc. Natl. Acad. Sci. USA. 1986. V. 83. P. 1911–1915.
16. McGuigan C., Pathirana R.N., Davies M.P.H., Balzarini J., DeClercq E. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 1994. V. 4. P. 427–430.
17. Perigaud C., Gosselin G., Lefebvre I., Girardet J.L., Benzaria S., Maury G., Imbach J.-L. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 1993. V. 3. P. 2521–2526.
18. Benzaria S., Girardet J.-L., Perigaud G., Aubertin A.M., Pelicano H., Maury G., Gosselin G., Kirn A., Imbach J.-L. // Nucl. Acids Symp. Ser. № 31. 1994. P. 129–130.
19. Perigaud G., Aubertin A.-M., Benzaria S., Pelicano H., Girardet J.-L., Maury G., Gosselin G., Kirn A., Imbach J.-L. // Biochem. Pharmacol. 1994. V. 43. P. 789–794.
20. Lefebvre I., Perigaud G., Pompon A., Aubertin A.-M., Girardet J.-L., Kirn A., Gosselin G., Imbach J.-L. // J. Med. Chem. 1995. V. 38. P. 3841–3950.
21. Puech F., Gosselin G., Lefebvre I., Pompon A., Aubertin A.-M., Kirn A., Imbach J.-L. // Antiviral Res. 1993. V. 22. P. 155–174.
22. Farquhar D., Nowak B., Khan S., Plunkett W. // Antiviral Res. 1991. V. 15. Suppl. 1. P. 143.
23. Sastry J.K., Nehete P.N., Khan S., Nowak B., Plunkett W., Arlinghaus B., Farquhar D. // Mol. Pharmacol. 1992. V. 41. P. 441–445.
24. Pompon A., Lefebvre I., Imbach J.-L., Kahn S., Farquhar D. // Antiviral Chem. Chemother. 1994. V. 5. P. 91–98.
25. Thomson W., Nickolls D., Irwin W.J., Al-Mushadani J.S., Freeman S., Karpas A., Petrik J., Mahmood N., Hay A.J. // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1. 1993. P. 1239–1245.
26. Gosselin G., Imbach J.-L. // Int. Antiviral News. 1994. V. 1. P. 100–102.
27. Khorana H.G., Tener G.M., Wright R.S., Moffat J.G. // J. Am. Chem. Soc. 1957. V. 79. P. 430.
28. Walker R.T., Hunston R.N., McGuigan C., Balzarini J., DeClercq E. // Nucl. Acids Symp. Ser. № 14. 1984. P. 9–10.
29. Hunston R.N., Jones A.S., McGuigan C., Walker R.T., Balzarini J., DeClercq E. // J. Med. Chem. 1984. V. 27. P. 440–444.
30. Puech F., Pompon A., Lefebvre I., Gosselin G., Imbach J.L. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 1992. V. 2. P. 603–606.
31. Busso M., Mian A.M., Hahn E.F., Resnick L. // AIDS Res. Hum. Retroviruses. 1988. V. 4. P. 449–445.
32. Schinazi R.F., Sommadossi J.-P., Saalman V., Cannon D.L., Xie M.-Y., Hart G.C., Smith G.A., Hahn E.F. // Antimicrob. Agents Chemother. 1990. V. 34. P. 1061–1067.
33. Farrow S.N., Jones A.S., Kumar A., Walker R.T., Balzarini J., DeClercq E. // J. Med. Chem. 1990. V. 33. P. 1400–1406.
34. Shimizu S.J., Balzarini J., DeClercq E., Walker R.T. // Nucleosides Nucleotides. 1992. V. 11. P. 583–594.
35. Puech F., Gosselin G., Balzarini J., DeClercq E., Imbach J. // J. Med. Chem. 1988. V. 31. P. 1897–1907.
36. Neumann J.M., Herve M., Debouzy J.-C., Iglesias Guerra F., Goyette C., Dupraz B., Huynh-Dinh T. // J. Am. Chem. Soc. 1989. V. 111. P. 4270–4277.
37. Henin Y., Goyette C., Schwartz O., Debouzy J.-C., Neumann J.-M., Tam Huyanh-Dinh // J. Med. Chem. 1991. V. 34. P. 1830–1837.
38. Goyette C., Neumann J.M., Fauve R., Huynh-Dinh T. // Tetrahedron Lett. 1989. V. 30. P. 6019–6022.
39. Le Bec C., Huynh-Dinh T. // Tetrahedron Lett. 1991. V. 32. P. 6553–6556.
40. Namane A., Goyette C., Fillion M.-P., Fillion G., Huynh-Dinh T. // J. Med. Chem. 1992. V. 35. P. 3039–3044.
41. Hong C.I., An S.-H., Buchheit D.J., Nechaev A., Kirisits A.J., West C.R., Berdel W.E. // J. Med. Chem. 1986. V. 29. P. 2038–2044.
42. Berdel W.E., Danhauser S., Hong C.I., Shick H.D., Reichert A., Busch R., Rastetter J., Vogler W.R. // Cancer Res. 1988. V. 48. P. 826–829.
43. Hong C.I., An S.-H., Schliselfeld L., Buchheit D.J., Nechaev A., Kirisits A.J., West C.R. // J. Med. Chem. 1988. V. 31. P. 1793–1798.
44. Hong C.I., Kirisits A.J., Nechaev A., Buchheit D.J., West C.R. // J. Med. Chem. 1990. V. 33. P. 1380–1386.
45. Hong C.I., Nechaev A., Kirisits A.J., Vig R., West C.R. // J. Med. Chem. 1993. V. 36. P. 1785–1790.
46. Hostetler K.Y., Stuhmiller L.M., Lentig H.B.M., van der Bosch H., Richman D.D. // J. Biol. Chem. 1990. V. 265. P. 6112–6117.
47. MacCoss M., Ryu E.K., Matsushita T. // Biophys. Biochem. Res. Commun. 1978. V. 85. P. 714–723.
48. Ryu E.K., Ross R.J., Matsushita T., MacCoss M., Hong C.I., West C.R. // J. Med. Chem. 1982. V. 25. P. 1322–1329.
49. MacCoss M., Edwards J.J., Lagocki P., Rahman Y.E. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1983. V. 116. P. 368–374.
50. Steim J.M., Camaioni Neto C., Sarin P.S., Sun D.K., Sehgal R.K., Turcotte J.G. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1990. V. 171. P. 451–457.
51. Shuto S., Itoh H., Ueda S., Imamura S., Fukukawa K., Tsujino M., Matsuda A., Ueda T. // Chem. Pharm. Bull. 1988. V. 36. P. 209–217.
52. Piantadosi C., Marasco C.J., Morris-Natschke S.L., Meyer K.L., Gumus F., Surles J.R., Ishaq K.S., Kucera L.S., Iyer N., Wallen C.A., Piantadosi S.J., Modest E.J. // J. Med. Chem. 1991. V. 34. P. 1408–1414.
53. Hong C., Nechaev A., West C. // J. Med. Chem. 1979. V. 22. P. 1428–1432.
54. Hong C., Nechaev A., Kirisits A., Buchheit D., West C. // J. Med. Chem. 1980. V. 23. P. 1343–1347.



55. MacCoss M., Robins M.J. // The Chemistry of Antitumor Agents. N.Y.: Acad. Press, 1990. P. 261–298.
56. Phelps M.E., Woodman P.W., Danenberg P.V. // J. Med. Chem. 1980. V. 23. P. 1229–1232.
57. McGuigan C., Devine K.G., O'Connor T.J., Galpin S.A., Jeffries D.J., Kinchington D. // Antiviral Chem. Chemother. 1990. V. 1. P. 107–113.
58. McGuigan C., Pathirana R.N., Choi S.S.-M., Kinchington D., O'Connor T.J. // Antiviral Chem. Chemother. 1993. V. 4. P. 97–101.
59. McGuigan C., Pathirana R.N., Mahmood N., Hay A.J. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 1992. V. 2. P. 701–704.
60. Gabrielsen B., Kirsi J.J., Kwong C.D., Carter D.A., Krauth C.A., Hanna L.K., Huggins J.W., Monath T.P., Kefauver D.F., Blough H.A., Rankin J.T., Bariz C.M., Huffman J.H., Smeed D.F., Sidwell R.W., Shannon W.M., Secrist J.A. // Antiviral Chem. Chemother. 1994. V. 5. P. 209–220.
61. Walker R.T., Hunston R.N., McGuigan C., Balzarini J., DeClercq E. // Nucl. Acids Symp. Ser. № 14. 1984. P. 9–10.
62. Jones A.S., McGuigan C., Walker R.T., Balzarini J., DeClercq E. // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1. 1984. P. 1471–1474.
63. Farquhar D., Kuttesch N.J., Wilkerson M.G., Winkler T. // J. Med. Chem. 1983. V. 26. P. 1158–1163.
64. Hunston R.N., Jones A.S., Walker R.T. // Phosphorus Chemistry Directed towards Biology / Ed. W.J. Stec. London, New York: Pergamon Press, 1980. P. 47–51.
65. Тарусова Н.Б., Хорлин А.А., Краевский А.А., Корнеева М.Н., Носик Д.Н., Круглов И.В., Галегов Г.А., Бибилашвили Р.Ш. // Молекуляр. биология. 1989. Т. 23. С. 1716–1724.
66. Sakatsume O., Yamane H., Takaku H., Yamamoto N. // Tetrahedron Lett. 1989. V. 30. P. 6375–6378.
67. Krayevsky A.A., Tarusova N.B., Zhu Q.-Y., Vidal P., Chou T.-C., Baron P., Polsky B., Jiang X.-J., Matulic-Adamic J., Rosenberg I., Watanabe K.A. // Nucleosides Nucleotides. 1992. V. 11. P. 177–196.
68. Matulic-Adamic J., Rosenberg I., Arzumanov A., Dyatkina N., Shirokova E., Krayevsky A., Watanabe K. // Nucleosides Nucleotides. 1993. V. 12. P. 1085–1092.
69. Tarusova N.B., Kukhanova M.K., Krayevsky A.A., Karamov E.K., Lukashov V.V., Kornilaeva G.B., Rodina M.A., Galegov G.A. // Nucleosides Nucleotides. 1991. V. 10. P. 351–354.
70. Atrazheva E.D., Lukin M.A., Jasko M.V., Shushkova T.V., Tarusova N.B., Krayevsky A.A., Balzarini J., DeClercq E. // Med. Chem. Res. 1991. P. 155–165.
71. Gosselin G., Perigaud C., Lefebvre I., Pompon A., Aubertin A.-M., Kirn A., Szabo T., Stawinski J., Imbach J.-L. // Antiviral Res. 1993. V. 22. P. 143–153.
72. Dyatkina N., Arzumanov A., Tarusova N. // Nucleosides Nucleotides. 1991. V. 10. P. 731–732.
73. Карамов В.В., Лукашев В.В., Корнилова Г.В., Родина М.А., Тарусова Н.Б., Краевский А.А. // Молекуляр. биология. 1992. Т. 26. С. 56–61.
74. Мамаева О.А., Плясунова О.А., Покровский А.Г., Дяткина Н.Б., Арзуманов А.А. // Молекуляр. биология. 1994. Т. 28. С. 137–142.
75. Куханова М.К., Тарусова Н.Б., Ясько М.В., Арзуманов А.А., Гудима С.О., Краевский А.А., Чиджавдзе З.Г., Бибилашвили Р.Ш. // Молекуляр. биология. 1992. Т. 26. С. 1148–1159.
76. Boal J.H., Iyer R.P., Egan W. // Nucleosides Nucleotides. 1993. V. 12. P. 1075–1084.
77. McGuigan C., Bellevergue P., Jones B.C.N.M., Mahmood N., Hay A.J., Petrik J., Karpas A. // Antiviral Chem. Chemother. 1994. V. 5. P. 271–277.
78. Wittman R. // Chem. Ber. 1962. V. 96. P. 771–779.
79. Johnson P.W., von Tigerstrom R., Smith M. // Nucl. Acids Res. 1975. V. 2. P. 1745–1749.
80. Dabkowski W., Cramer F., Michalski J. // Tetrahedron Lett. 1987. V. 28. P. 3561–3562.
81. Michalski J., Dabkowski W., Lopusinski A., Cramer F. // Nucleosides Nucleotides. 1991. V. 10. P. 283–286.
82. Dabkowski W., Cramer F., Michalski J. // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1. 1992. P. 1447–1452.
83. Dabkowski W., Cramer F., Michalski J. // Tetrahedron Lett. 1988. V. 29. P. 3301–3302.
84. Nichol A.W., Nomura A., Hampton A. // Biochemistry. 1967. V. 6. P. 1008–1015.
85. Арзуманов А.А., Дяткина Н.Б., Куханова М.К., Краевский А.А., Семченко Ф.М., Еремич О.Г., Мартынов Б.И. // Биооргани. химия. 1993. Т. 19. С. 978–980.
86. Dyatkina N., Arzumanov A., Krayevsky A., O'Hara B., Gluzman Y., Baron P., MacLow C., Polsky B. // Nucleosides Nucleotides. 1994. V. 13. P. 325–337.
87. Kucerova Z., Skoda J. // Biochim. Biophys. Acta. 1971. V. 247. P. 194–196.
88. Кузнецова Е.В., Куханова М.К., Арзуманов А.А., Краевский А.А. // Молекуляр. биология. 1995. Т. 29. С. 415–420.
89. Coe D.M., Roberts S.M., Storer R. // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1. 1992. P. 2695–2704.
90. Wolff-Kügel D., Halazy S. // Nucleosides Nucleotides. 1993. V. 12. P. 279–294.
91. Ogino Y., Nishiyama S., Yamamura S., Izawa T., Kato K. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 1994. V. 4. P. 1991–1994.
92. Norbeck D.W., Sham H.L., Rosenbrock W., Herrin T., Plattner J.J. // Nucleosides Nucleotides. 1992. V. 11. P. 1383–1391.
93. DeClercq E., Sakuma S.C., Babā M., Pauwels R., Balzarini J. // Antiviral Res. 1987. V. 8. P. 261–272.
94. Holy A., Votruba I., Merta A., Cerny J., Vesely J., Vlach J., Sediva K., Rosenberg I., Otnar M., Hrebabecky H., Travnicek M., Vonka V., Sponck R., DeClercq E. // Antiviral Res. 1990. V. 13. P. 295–312.
95. Wigler P.W., Lozzio C.B. // J. Med. Chem. 1972. V. 15. P. 1020–1024.
96. Myers T.C., Nakamure K., Daniełzadeh A.B. // J. Org. Chem. 1964. V. 30. P. 1517–1520.

97. Holy A. // Collect. Czech. Chem. Commun. 1967. V. 32. P. 3713-3718.
98. Heimer E.P., Nussbaum A.L. // Chem. Abstr. 1978. V. 88. P. 51130 s.
99. Lambert R.W., Martin J.A., Thomas J., Duncan I.B., Hall M.J., Heimer E.P. // J. Med. Chem. 1989. V. 32. P. 367-374.
100. Дяткина Н.Б., Ясько М.В., Арзуманов А.А., Краевский А.А., Семченко Ф.М., Еремин О.Г., Мартынов Б.Н. // Биоорган. химия. 1992. Т. 18. С. 100-106.
101. Vaghefi M.M., McKernan P.A., Robins R.K. // J. Med. Chem. 1986. V. 29. P. 1389-1393.
102. Griengl H., Hayden W., Penn G., DeClercq E., Rosenwirth B. // J. Med. Chem. 1988. V. 31. P. 1831-1839.
103. Rosowsky A., Saha J., Fazely F., Koch J., Ruprecht R.M. // Biochem. Biophys. Res. Commun. 1990. V. 172. P. 288-294.
104. Saha J., Ruprecht R.M., Rosowsky A. // Nucleosides Nucleotides. 1991. V. 10. P. 1465-1475.
105. Krayevsky A.A., Tarussova N.B., Zhu Q.-Y., Vidal P., Chou T.-C., Baron P., Polsky B., Jiang X.-J., Matulic-Adamic J., Rosenberg I., Watanabe K.A. // Nucleosides Nucleotides. 1992. V. 11. P. 177-196.
106. Mullah K.B., Rao T.S., Balzarini J., DeClercq E., Bentrude W.G. // J. Med. Chem. 1992. V. 35. P. 2728-2735.
107. Krayevsky A.A., Tarussova N.B., Kukhanova M.K., Balzarini J., DeClercq E., Karamov E.V., Lukashov V.V. // Nucl. Acids Symp. Ser. № 24. 1991. P. 13-16.
108. Casara P.J., Jund K.C., Clauss A., Nave J.-F., Snyder R. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 1992. V. 2. P. 145-148.
109. Griengl H., Hayden W., Penn G., DeClercq E., Rosenwirth B. // J. Med. Chem. 1988. V. 31. P. 1831-1839.
110. Дяткина Н.Б., Викторова Л.С., Мозжерин Д.Ю., Атражнев А.М., Розенберг С.Г., Куханова М.К., Краевский А.А. // Молекуляр. биология. 1991. Т. 25. С. 1688-1700.
111. Dyatkina N., Arzumanov A., Victorova L., Kukhanova M., Kraevsky A. // Nucleosides Nucleotides. 1995. V. 14. P. 91-104.
112. Kim C.U., Luh B.Y., Martin J.C. // J. Org. Chem. 1991. V. 56. P. 2642-2647.
113. Kim C.U., Luh B.Y., Martin J.C. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 1992. V. 2. P. 307-310.
114. Yengoyan L., Rammler D.H. // Biochemistry. 1966. V. 5. P. 3629-3638.
115. Rammler D.H., Yengoyan L., Paul A.V., Bax P.C. // Biochemistry. 1967. V. 6. P. 1828-1837.
116. Raja N., Smees D.F., Robins R.K., Vaghefi M.M. // J. Med. Chem. 1989. V. 32. P. 1307-1313.
117. Aly Y.L., Abdel-Megied A.E.-S., Pedersen E.B., Nielsen C. // Liebigs Ann. Chem. 1992. V. 23. P. 127-129.
118. Holy A., Rosenberg I. // Collect. Czech. Chem. Commun. 1982. V. 47. P. 3447-3458.
119. Jie L., Van Aershot A., Balzarini J., Janssen G., Busson R., Hoogmartens J., DeClercq E., Herdewijn P. // J. Med. Chem. 1990. V. 33. P. 2481-2487.
120. Ясько М.В., Новиков Н.А., Тарусова Н.Б. // Биоорган. химия. 1994. Т. 20. С. 50-54.
121. Jones G.H., Hamamura E.K., Moffat J.G. // Tetrahedron Lett. 1968. V. 55. P. 5731-5734.
122. Freeman G.A., Rideout J.L., Miller W.H., Reardon J.E. // J. Med. Chem. 1992. V. 35. P. 3192-3196.
123. Benzaria S., Maury G., Gosselin G., Rittinger K., Divita G., Goody R.S., Imbach J.-L. // Antiviral Chem. Chemother. 1994. V. 5. P. 221-228.
124. Riggs R.M., Comber R.N., Montgomery J.A., Secrist J.A., Leeds J.M., Chaffee S., Herschfield M.S. // Nucleosides Nucleotides. 1989. V. 8. P. 1119-1120.
125. Montgomery J.A., Thomas J.H., Kisliuk R.L., Gaumont Y. // J. Med. Chem. 1979. V. 22. P. 109-111.
126. Tanaka H., Fukui M., Haraguchi K., Masaki M., Miyasaka T. // Tetrahedron Lett. 1989. V. 30. P. 2567-2570.
127. Burton D.H.R., Gero S.D., Quiclet-Sire B., Samadi M. // Tetrahedron Lett. 1989. V. 30. P. 4969-4972.

## Modified Nucleoside Phosphates as Precursors of Antiviral and Antitumor Compounds in Cell

A. A. Arzumanov\* and N. B. Dyatkina

Engelhardt Institute of Molecular Biology, Russian Academy of Sciences,  
ul. Vavilova 32, Moscow, 117984 Russia

**Abstract**—Methods of synthesis of modified nucleoside phosphates, their cellular metabolism, and antiviral or cytostatic activity are reviewed.

**Key words:** nucleoside 5'-phosphates, nucleoside 5'-phosphonates, anti-HIV agents.