

УДК 579.66:577.152.311:579.873.71

Л.Л. Биричевская, доц., канд. биол. наук;
А.И. Зинченко, проф., д-р биол. наук
(Институт микробиологии НАН Беларуси, г. Минск);
Е.И. Квасюк, проф., д-р хим. наук;
М.А. Ханчевский, студ.; А.К. Дорошевич, студ.
(МГЭИ им. А.Д. Сахарова БГУ, г. Минск)

СИНТЕЗ ФОСФАТИДИЛЬНОГО ПРОИЗВОДНОГО β-D-N4-ГИДРОКСИЦИТИДИНА С ИСПОЛЬЗОВАНИЕМ МИКРОБНОЙ ФОСФОЛИПАЗЫ D

Считается, что самым эффективным средством борьбы с пандемией COVID-19 является вакцинация. Однако, не исключена вероятность, что вакцины против быстро мутирующего коронавируса будут так же быстро терять свою эффективность. Это обстоятельство оправдывает усилия на создание лекарств прямого противовирусного действия. Поскольку создание новых специфических препаратов для лечения конкретно новой инфекции является длительным процессом, занимающим, как правило, несколько лет, все медицинское сообщество фокусируется на изучении возможности использования для терапии коронавирусной инфекции уже существующих противовирусных средств. Для этого актуализируется и обсуждается предыдущий опыт лечения инфекций, вызванных другими вирусами.

По химической природе большинство известных противовирусных препаратов представляют собой модифицированные нуклеозиды, которые, однако, сами по себе активностью не обладают. Для превращения в активную субстанцию они должны в клетке подвергнуться метаболической активации, заключающейся в поэтапном превращении нуклеозида в нуклеозид-5'-трифосфат.

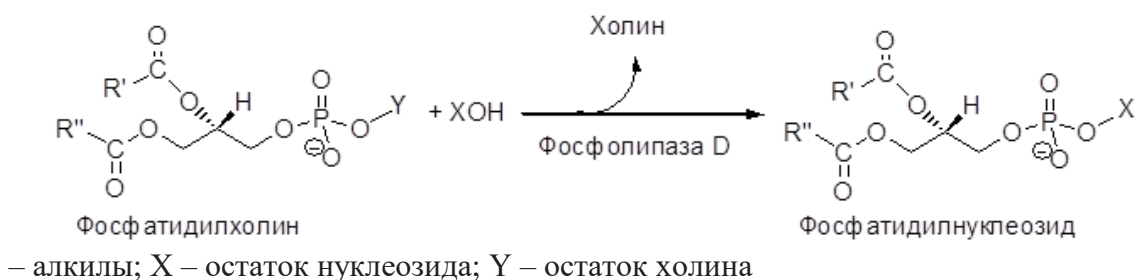
Первый этап (5'-монофосфорилирование нуклеозида) часто является этапом, ограничивающим скорость активации. Более того, при отсутствии нуклеозидкиназы, осуществляющей эту стадию, дальнейшее превращение нуклеозида в действующую субстанцию полностью блокируется. Для шунтирования этой стадии применяют т.н. стратегию «Pro-Tide», одним из вариантов которой является использование вместо нуклеозидов их 5'-фосфатидильных производных. Попадая в клетки, эти соединения гидролизуются клеточными эстеразами, превращаясь (без участия нуклеозидкиназ) в нуклеозид-5'-монофосфаты.

Таким образом, научная идея авторов заключается в предложении использовать в качестве препарата против коронавируса SARS-CoV-2 не сам нуклеозид, а его 5'-фосфатидильное производное.

В качестве нуклеозида-предмета настоящего исследования использовался модифицированный аналог цитидина – β-D-N4-гидроксицитидин (далее гидроксицитидин). Это соединение является активной формой молнупиравира (EIDD-2801) – препарата, который представляет собой 5'-изопропиловый эфир гидроксицитидина и в настоящее время проходит фазу III клинических испытаний при лечении пациентов с COVID-19.

Следует отметить, что и сам гидроксицитидин (EIDD-1931) обладает широким спектром противовирусной активности против различных РНК-содержащих вирусов, включая вирус гепатита С, вирус Эбола и вирус гриппа.

Цель исследования – изучение возможности использования фосфолипазы D *Streptomyces netropsis* БИМ В-428Д (Белорусская коллекция непатогенных микроорганизмов), способной переносить фосфолипидный остаток с лецитина на первичные спирты (Схема), для получения фосфатидил-гидроксицитидина, перспективного для лечения пациентов, инфицированных пандемическим коронавирусом.



Использованный в работе гидроксицитидин синтезировали методом, описанным в сообщении [1]. Синтез 5'-фосфатидил-гидроксицитидина (рисунок 1) осуществляли в двухфазной реакционной смеси объемом 1 мл, состоящей из 670 мкл хлороформной фазы и 330 мкл водной фазы, содержащей 0,2 М натрий-ацетатный буфер (рН 6,0) и 0,1 М CaCl₂.

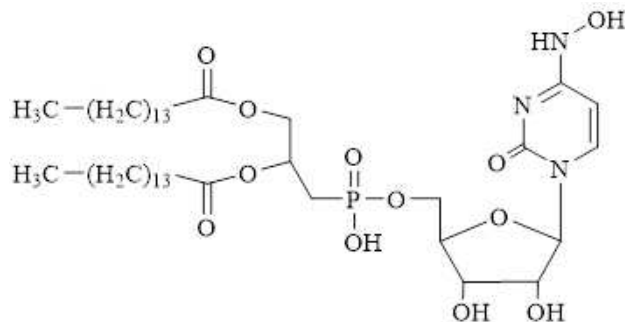
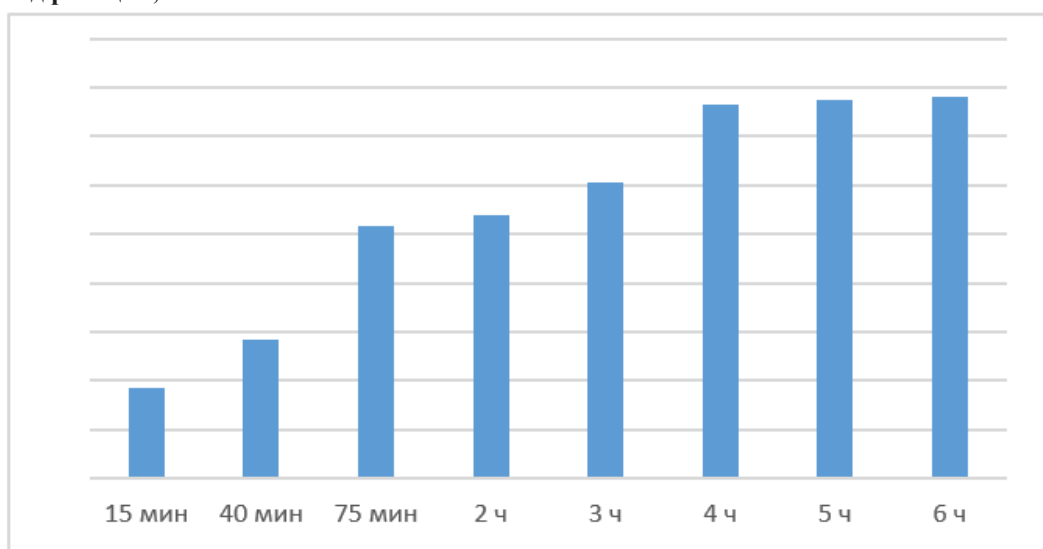


Рисунок 1 – Структура молекулы 5'-димиристоилфосфатидил-гидроксицитидина

Реакционная смесь содержала 10 мкмоль нуклеозида, 20 мкмоль 1,2-димиристоилфосфатидилхолина и 0,15 мг сухого препарата ФЛД. Реакцию вели в течение 6 ч при температуре 37 °С и постоянном перемешивании. Ход реакции контролировали при помощи ТСХ в системе растворителей хлороформ/метанол/вода (15:5:0,8 об.). Выход реакции (рисунок 2) составил более 70 мол%.

Выход реакции, %



Время реакции

Рисунок 2 – Динамика накопления целевого продукта в реакционной смеси

Выводы. В работе впервые синтезировано 5'-фосфатидильное производное β -D-N4-гидроксицитидина, предположительно способное выступать при терапии COVID-19 более эффективной пролекарственной формой, чем молнупиравир.

ЛИТЕРАТУРА

1 Concise route to MK-4482 (EIDD-2801) from cytidine / V.A Natarajan [et al.] // Chem. Commun. – 2020. – Vol. 56. – P. 13363–13364. DOI: 10.1039/D0CC05944G.