



УДК 615.33 + 544.63

ЛИГАНДЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ СРОДСТВОМ К ОПРЕДЕЛЕННЫМ ПАРАМ ОСНОВАНИЙ ДНК

II. ИЗУЧЕНИЕ СТЕРЕОХИМИИ ХРОМОФОРА ДИСТАМИЦИНА А МЕТОДОМ СПЕКТРОСКОПИИ ¹³С-ЯМР*

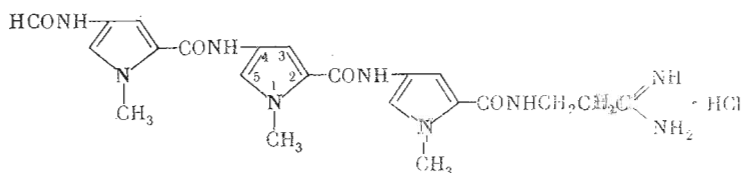
Турчин К. Ф., Гроховский С. Л., Жузе А. Л., Готтих Б. И.

Всесоюзный научно-исследовательский химико-фармацевтический институт им. С. Орджоникидзе, Москва;

Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва

С целью изучения стереохимии хромофорной части противовирусного антибиотика дистамицина А синтезированы ряд модельных соединений, содержащих одно, два или три пиррольных ядра, соединенных между собой амидными или N-метиламидными связями в положениях 2 и 4**. Методом спектроскопии ¹³С-ЯМР показано, что для фрагмента молекулы дистамицина А, содержащего два пиррольных ядра, предпочтительна конформация с *транс*-ориентацией связей С2=С3 и С=О относительно связи С2—СО (*s-транс*), с *транс*-ориентацией связей С2—СО и NH—С4 относительно амидной связи СО—NH и с *цис*-ориентацией связей NH—СО и С4=С5 относительно связи NH—С4. Высказано предположение о преобладании аналогичных конформаций для олигопирролкарбоксамидного остова молекулы антибиотика.

Механизм ингибирования матричной активности ДНК противовирусным антибиотиком дистамицином А обусловлен образованием им прочных комплексов с А·Т-богатыми участками двуничатой ДНК [2]. Такая специфичность связывания антибиотика, по-видимому, обусловлена особенностью стереохимии образующегося комплекса. Необходимым этапом



Дистамицин А

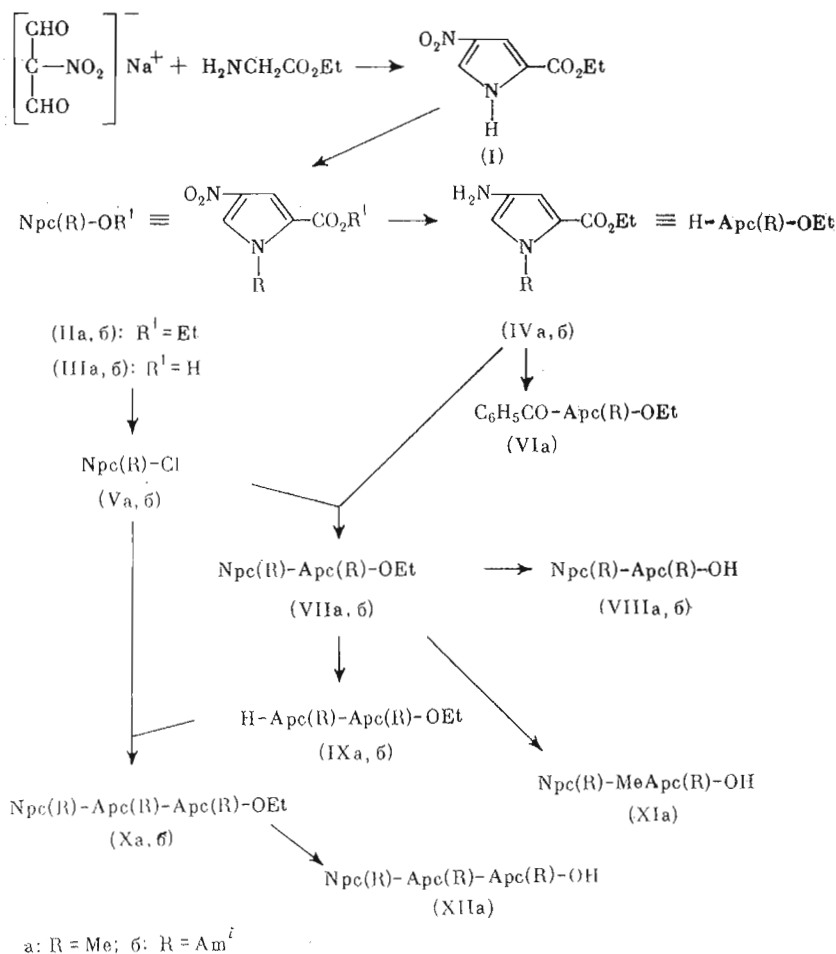
* Сообщение 1 см. [1].

** В статье для обозначения 4-замещенных 1-алкилпиррол-2-карбоновых кислот и их производных, так же как для непиридных аминокислот, использованы трехбуквенные сокращения, а именно: Npc(R) — остаток 1-алкил-4-нитропиррол-2-карбоновой кислоты; Apc(R) — остаток 1-алкил-4-аминопиррол-2-карбоновой кислоты; MeApc(R) — остаток 1-алкил-4-метиламинопиррол-2-карбоновой кислоты. Соединениям, включающему в шифр букву «а», соответствует R = Me (метил); буквы «б» — R = Aloc² (изоамил). Принято также следующее сокращение: ПСР — парамагнитный сдвигающий реагент.

в выяснении стереохимии этого комплекса является установление пространственной структуры самого антибиотика в растворе, и прежде всего его хромофорной части, состоящей из трех последовательно расположенных остатков 1-метил-4-аминопиррол-2-карбоновой кислоты.

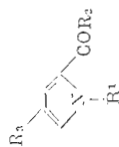
Для установления взаимной ориентации пиррольных ядер в молекуле дистамицина А нами были изучены спектры ^1H -ЯМР модельных соединений, содержащих одно или несколько пиррольных ядер, соединенных друг с другом амидными или метиламидными связями (табл. 1—3).

Синтез соединений (I) — (XII) осуществлен по приведенной схеме.



Этиловый эфир 4-нитропиррол-2-карбоновой кислоты (I) получен нами конденсацией натригномалонного диальдегида с этиловым эфиром глицина по модифицированному методу Хейла и Хойта [3]. После алкилирования натриевого производного, полученного из нитроэфира (I), подистым алкилом соответствующие N-алкильные производные (II) гидролизовали и выделенные кислоты (III) переводили в хлорангидриды (V) кипячением с SOCl_2 . Этиловые эфиры 1-алкил-4-аминопиррол-2-карбоновых кислот (IV), полученные при каталитическом гидрировании соединений (II), ацилировали либо хлористым бензоилом с образованием бензоильного производного (VIa), либо хлорангидридами (V) с образованием нитроэфиров с двумя N-алкилпиррольными ядрами в молекуле (VII). Щелочной гидролиз последних соединений приводит к нитрокислотам (VIII).

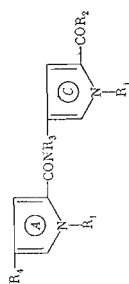
Химические сдвиги протонов некоторых 1,2,4-тризамещенных пирролов*



Соединение	R ₂	R ₃	δ, м.д. **				
			3-H	5-H	R ₁	R ₂	R ₃
(I) (R ₁ = H)	OEt	NO ₂	7,29	8,11	13,3	1,34 (CH ₃), 4,33 (CH ₂)	
(IIa)	OEt	NO ₂	7,32	8,21	4,03	1,34 (CH ₃), 4,36 (CH ₂)	
(IIб)	OEt	NO ₂	7,36	8,33	0,96 (CH ₃), 1,70 (CHClCH ₂), 4,49 (NCH ₂)	1,36 (CH ₃), 4,34 (CH ₂)	
(IIIa)	OH	NO ₂	7,30	8,18	4,02		
(IIIб)	OH	NO ₂	7,35	8,30	0,96 (CH ₂), 1,70 (CHCH ₂), 4,50 (NCH ₂)		
(VIa)	OEt	NHCOC ₆ H ₅	7,08	7,58	3,94	1,32 (CH ₃), 4,33 (CH ₂)	7,55 (Ph:3,4,5-H), 8,05 (Ph:2,6-H)
(XIIa)	NH ₂	NO ₂	7,59	8,40	4,04		
(XIVa)	NHCH ₃	NO ₂	7,43	8,09	4,04	8,37 (NH), 2,83 (CH ₃)	
(XVa)	N(CH ₃) ₂	NO ₂	6,99	8,09	3,85	3,12	
(XVIa)	NHC ₆ H ₅	NO ₂	7,75	8,18	4,08	10,16 (NH), 7,81 (Ph:2,6-H), 7,36 (Ph:3,5-H), 7,10 (Ph:4-H), 10,12 (NH), 7,71 (Ar:2,6-H), 7,17 (Ar:3,5-H), 2,30 (Ar-CH ₃)	
(XVIIa)	NHC ₆ H ₄ CH ₃ (n)	NO ₂	7,74	8,17	4,08	3,38 (NCH ₃), 7,23 (Ar:2,3,5,6-H), 2,31 (Ar:4-CH ₃)	
(XVIIIa)	N(CH ₃)C ₆ H ₄ CH ₃ (n)	NO ₂	6,09	8,00	3,97	8,9 (NH), 2,85 (CCH ₂ C), 3,62 (CH ₂ N)	
(XIXa)	NHCH ₂ CH ₂ CN	NO ₂	7,55	8,12	4,05	9,35 (CONH), 2,90 (CCH ₂ C), 3,70 (CH ₂ N)	
(XXa)	NH(CH ₂) ₂ C(=NH)NH ₂ ·HCl	NO ₂	7,70	8,10	4,03		

* Для соединений с буквой «а» в шифре R₁ = CH₃, для «б» — R₁ = CH₂CH₂CH(CH₃)₂.** Растворитель — диметилформамид-d₇.

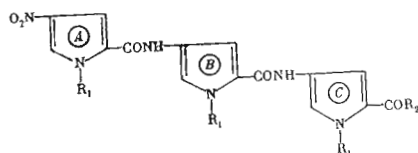
Химические сдвиги протонов соединений, содержащих два ширрольных ядра



Соединение	R ₂	R ₃	R ₄	δ, м.л.*					
				3-Н	5-Н	R ₁	R ₂	R ₃	R ₄
(VIIa)	OEt	H	NO ₂	A 7,63 C 7,03	8,16	4,09 3,94	1,33(CH ₃), 4,25(CH ₂)	10,34	
(VIIб)	OEt	H	NO ₂	A 7,63 C 7,05	8,25 7,57	0,96(CH ₃), 4,58(NCH ₂), 1,67(CHCH ₂), 4,40(NCH ₂)	1,33(CH ₃), 4,27(CH ₂)	10,34	
(VIIIб)	OH	H	NO ₂	A 7,63 C 7,03	8,25 7,57	0,96(CH ₃), 4,58(NCH ₂), 1,67(CHCH ₂), 4,43(NCH ₂)		10,33	
(XIa)	OH	CH ₃	NO ₂	A 7,28 C 6,57	8,0 6,90	3,90** 3,92**		3,38	
(XXIa)	NHCH ₂ CH ₂ CN	H	NO ₂	A 7,64 C 7,05	8,13 7,36	4,10 3,95	8,42(NH), 2,70(CCH ₂ C) 3,55(CH ₂ N)	10,31	
(XXIIa)	NH(CH ₂) ₂ C(=NH)NH ₂ ·HCl	H	NO ₂	A 7,66 C 7,05	8,13 7,36	4,06 3,90	8,50(NH), 3,70(CH ₂ N)	10,38	
(XXIIб)	NH(CH ₂) ₂ C(=NH)NH ₂ ·HCl	H	NO ₂	A 7,77 C 7,09	8,22 7,48	0,94(CH ₃), 4,58(NCH ₂), 1,65(CH ₂ CH), 4,40(NCH ₂)	8,60(NH), 2,9(CCH ₂ C) 3,7(CH ₂ N)	10,54	
(XXIIIa)	OEt	CH ₃	NO ₂	A 7,36 C 6,60	8,01 6,95	3,90** 3,92**	1,22(CH ₃) 4,25(CH ₂)	3,39	
(XXIIIa)***	OEt	CH ₃	NO ₂	A 7,35 C 6,36	8,22 7,02	3,93 3,93	1,24(CH ₃)	3,29	
(XXIVa)	NH(CH ₂) ₂ C(=NH)NH ₂ ·HCl	H	HCONH	A 7,82 C 7,13	8,37 7,35	3,84** 3,74**	4,3(CH ₃)	3,58	
				A 7,07 C 7,05	7,27 7,32	3,89** 3,93**	8,43(NH) 3,7(CH ₂ N)	10,42**	10,02** (NH) 8,22(CH)

* Растворитель — диметилформамид-d₂. ** Возможно обратное отнесение сигналов группировок в кольцах А и С. *** При температуре —50°.

Химические сдвиги протонов соединений, содержащих три пиррольных ядра



Соединение	R ₂	δ, м.д. *				
		3-Н	5-Н	R ₁	R ₂	NH
(Xa)	OEt	A 7,60 B 7,14 C 7,03	8,06 7,30 7,48	4,08 3,96 3,90	1,30 (CH ₃) 4,25 (CH ₂)	10,26 (AB) 9,94 (BC)
(Xб)	OEt	A 7,64 B 7,17 C 7,09	8,25 7,45 7,59	0,94 (CH ₃) 1,70 (CHCH ₂ -C) 4,40-4,60 (NCH ₂)	1,32 (CH ₃) 4,26 (CH ₂)	10,40 (AB) 10,04 (BC)
(XIIa)	OH	A 7,63 B 7,18 C 7,03	8,16 7,37 7,53	4,10 3,98 3,93		10,35 (AB) 10,05 (BC)

* Растворитель — диметилформамид-*d*₇.

Нитроокислота (XIa) с N-метиламидной связью между пиррольными ядрами была получена из соединения (VIIa) последовательной обработкой гидридом натрия и иодистым метилом в абсолютном диметилформамиде и последующим омылением полученного продукта. Выделенный промежуточный нитрозфир (XIIIa) (см. табл. 2) был охарактеризован только данными ЯМР-спектроскопии, поскольку при реакции N-метилирования одновременно произошла частичная переэтерификация карбоксильной группы.

Соединения (X) с тремя пиррольными ядрами были получены путем гидрирования соединений (VII) с последующим ацилированием аминоэфиров (IX) хлорангидридами (V). Нитроокислота (XIIa) была получена из нитрозфира (Xa) при щелочном гидролизе в водно-диоксановом растворе.

Соединения (XIIIa — XVIIa), приведенные в табл. 1, были синтезированы конденсацией хлорангидрида (Va) с соответствующими аминами. N-Метил,N-*n*-толиламид (XVIIa) был получен из N-*n*-толиламида (XVIa) последовательной обработкой гидридом натрия и иодистым метилом в абсолютном диметилформамиде.

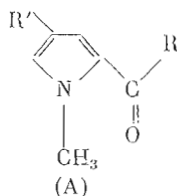
Синтез соединений (IIa), (IIIa), (XIXa), (XXa) (см. табл. 1) и (XXIVa) (см. табл. 2) описан в работе [1], синтез соединений (XXIa), (XXIIa) (см. табл. 2) — в работе [4]. Амидин (XXIIб) получен из соответствующего нитрила по методу, описанному в работе [4].

В спектрах ¹H-ЯМР 1,2,4-тризамещенных пирролов (табл. 1) сигналы протонов пиррольного ядра при C3 и C5 представляют собой два дублета в области 6,0—8,3 м.д. с константой спин-спинового взаимодействия $J_{3,5} \approx 2$ Гц; при этом в более слабом поле наблюдается сигнал протона при C5, дополнительно уширенный вследствие дальнего взаимодействия с протонами заместителя при атоме азота ($^4J \leq 0,5$ Гц). В наиболее слабом поле (8,1—8,3 м.д.) наблюдается сигнал протона 5-Н в замещенных 4-нитропирролах. В соединениях с амидной группой в положении 4 сигнал протона 5-Н смещен в более сильное поле (в область 7,5—7,6 м.д.); сильнополюсный сдвиг в этих соединениях претерпевают также и сигналы других протонов. Указанные различия в величинах химических сдвигов протонов 3-Н, 5-Н и N1—CH₃, обусловленные заместителем в положении

4 пиррольного ядра, были использованы для отнесения сигналов к протонам разных пиррольных ядер в соединениях с двумя [(VII), (VIII), (XI), (XXI) — (XXIV)] и тремя [(X), (XII)] пиррольными ядрами.

Анализ данных табл. 1, относящихся к монопиррольным производным с различными заместителями в положении 2 пиррольного ядра, обнаруживает наиболее сильное влияние этого заместителя на величину химического сдвига протона в положении 3. Так, для соединений (XIVa) и (XVIa) с заместителями при C2 соответственно CONHCH_3 и CONHC_6H_5 различия в химических сдвигах составляют 0,32 м.д. для протона 3-Н и 0,04 м.д. для протонов группы N1—CH₃. Заметные различия величин химических сдвигов протонов 3-Н наблюдаются для соединений, содержащих близкие по электронным эффектам заместители при C2, например CONHCH_3 в соединении (XIVa) (δ 7,43) и $\text{CONHCH}_2\text{CH}_2\text{CN}$ в соединении (XIXa) (δ 7,55); величины химических сдвигов протонов группы N1—CH₃ в этих соединениях практически совпадают. Наконец, замена амидной группы в положении 2 на сложноэфирную приводит к заметному изменению величины химического сдвига протона 3-Н и мало влияет на химический сдвиг протонов группы N1—CH₃. Лишь в третичных амидах (XVa) и (XVIIa) химические сдвиги протонов группы N1—CH₃ иные, чем в остальных соединениях, возможно, вследствие иного конформационного равновесия*.

Сильная зависимость величины химического сдвига протона 3-Н при одновременной слабой зависимости протонов группы N1—CH₃ от характера заместителя при C2 показывает, что для изученных монопиррольных кислот, эфиров и вторичных амидов предпочтительна конформация, в которой одинаковый для всех соединений карбонил заместителя в положении 2 сближен с N-метильной группой в положении 1, т. е. *s-trans*-конформация (A).



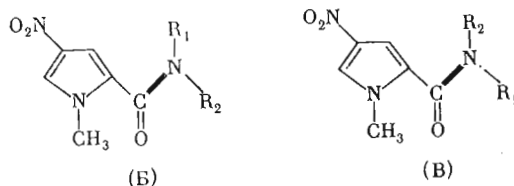
Аналогичная *s-trans*-конформация предпочтительна также и для производных фурана и тиафена с ацетильной группой в положении 2 [5].

В соединениях с двумя пиррольными ядрами (табл. 2) химические сдвиги протонов 5-Н и заместителя N1—CH₃ в 4-нитропиррольном ядре «А» близки к химическим сдвигам соответствующих протонов в соединении (XVIa); более слабopольное положение сигнала 3-Н в последнем соединении, вероятно, обусловлено большим значением анизотропии магнитной восприимчивости бензольного кольца по сравнению с пиррольным. В целом эти данные показывают, что в соединениях с двумя пиррольными ядрами *s-trans*-конформация относительно связи C2—CO также является предпочтительной. Этот вывод справедлив и для соединений, содержащих три пиррольных ядра (табл. 3), о чем свидетельствуют близкие значения химических сдвигов протонов 3-Н и 5-Н пиррольных ядер «А» и «С» в соединениях (VIIa) и (Xa) или (VIIб) и (Xб), а также протонов N1—CH₃ в соединениях (VIIa) и (Xa).

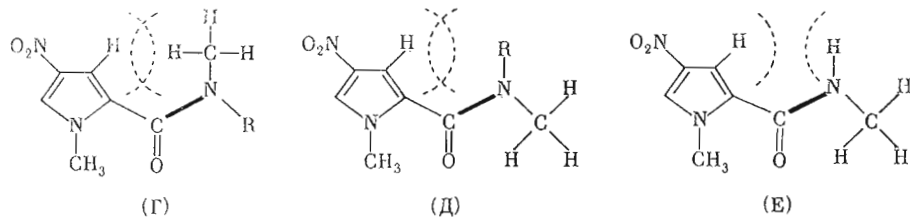
Соединения (VII), (VIII), (X)—(XXIV) с амидным заместителем в положении 2 по крайней мере одного из пиррольных ядер, а также соединения (VI) с этим заместителем в положении 4 могут существовать в

* Для 2-диметиламидных производных фурана и тиафена конформационное равновесие почти полностью сдвинуто в сторону *s-cis*-конформера [5].

растворе в виде смеси конформеров (Б, В) относительно частично двосвязной амидной связи СО—N. Подобная конформационная изомерия проявлялась в спектре соединения (XXIIIa), снятом при низкой температуре (-20° и ниже), в наличии двух наборов сигналов идентичных протонов.



Характерной особенностью спектров обоих конформеров этого соединения является расположение сигнала протонов заместителя $N1-CH_3$ в 4-нитропиррольном ядре «А» в более сильном поле по сравнению с соответствующим сигналом неметилированного по амидному азоту соединения (VIIa). Такое сильнополюсное смещение указанного сигнала наблюдается и для других N-метиламидных производных (XVa) и (XVIIIa). По-видимому, оно не связано с непосредственным электронным влиянием заместителя CH_3 у амидного азота, как это следует из совпадения химических сдвигов протонов группы $N1-CH_3$ в амиде (XIIIa) и N-метиламиде (XIVa). Вероятно, смещение сигнала $N1-CH_3$ в сильное поле в соединениях (XVa), (XVIIIa) и (XXIIIa) — следствие сильного стерического взаимодействия заместителя при амидном азоте с нитропиррольным остатком в любом из возможных конформеров (Г, Д).



Отсутствие подобного сильнополюсного смещения сигналов протонов группы $N1-CH_3$ в спектрах изученных нами вторичных амидов 1-метил-4-нитропиррол-2-карбоновой кислоты показывает, что в этих соединениях конформационное равновесие относительно амидной связи СО—NH сдвинуто в сторону конформера (Е), в котором отсутствуют стерические взаимодействия указанного типа, а имеются лишь более слабые взаимодействия между нитропиррольным ядром и атомом водорода при амидном азоте. Этот вывод находится в соответствии с установившейся в литературе точкой зрения о предпочтительности конформации с *транс*-ориентацией заместителей относительно амидной связи в N-монозамещенных ацетамидах и ацетанилидах [6].

Считая предпочтительной для амидных производных пиррола конформацию с *транс*-ориентацией заместителей относительно амидной связи, мы попытались определить предпочтительную конформацию относительно связи $C4-N$ заместителя $NHCOR$ в положении 4 пиррольного ядра. С этой целью были изучены спектры 1H -ЯМР соединений (IIa), (IIб), (VIa) и (VIIб), измеренные с добавками ПСР — трис(дипивалоилметанато)-европия $Eu(DPM)_3$ в хлороформе- d_1 (см. табл. 4). Выбор в качестве объекта исследования N-изоамильного производного (VIIб), а не соответствующего N-метильного производного (VIIa) был продиктован недостаточной для записи спектра растворимостью соединения (VIIa) в хлороформе.

Относительные парамагнитные сдвиги протонов $\delta_{Eu}H_i/\delta_{Eu}CH_2^{Et}$ 4-нитро- и 4-ацетиламинопроизводных пиррола

Соединение	$\delta_{Eu}(\delta_{Eu}CH_2^{Et} = 1)$				
	3-Н	5-Н	NCH ₃ (NCH ₂)	CH ₃ (Et)	NH
(IIa)	0,50	0,23	0,67	0,33	
(IIб)	0,56	0,29	0,79	0,26	
(VIa)	1,00	1,63	0,50	0,27	1,34
(VIIб)	A 0,24 C 0,77	0,13 0,70	0,35 0,97	0,28	0,52

Известно, что для i -го протона величина химического сдвига δ_{Eu} , индуцированного ПСР, приближенно равна [7]

$$\delta_{Eu, i} \approx k \frac{\cos^2 \theta_i - 1/3}{R_i^3}, \quad (1)$$

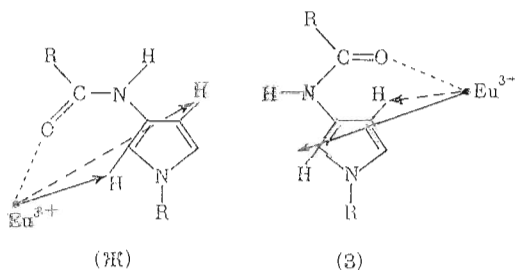
где θ_i — угол между осью комплекса и направлением на данный протон R_i — расстояние между данным ядром и парамагнитным ионом.

При возможности комплексообразования по n центрам индуцированный сдвиг данного протона H_i будет равен сумме сдвигов, обусловленных координацией парамагнитного иона по каждому из центров:

$$\delta_{Eu, i} \approx \sum k_{in} \frac{\cos^2 \theta_{in} - 1/3}{R_{in}^3}. \quad (1')$$

Рассматриваемые нами соединения (IIa) и (IIб) имеют по одному центру координации — группу COOEt, а соединения (VIa) и (VIIб) — по два: группу COOEt и группу C=O амидного заместителя.

Изучение молекулярных моделей соединений (VIa) и (VIIб) показывает, что вклады в химические сдвиги, обусловленные координацией иона Eu^{3+} по карбонилу амидной группы, для протонов 3-Н и 5-Н пиррольного ядра соединения (VIa) и тех же протонов пиррольного ядра «С» соединения (VIIб) должны сильно зависеть от конформации молекул этих соеди-



нений относительно связи C4—N. Соотношение указанных вкладов $\delta_{Eu} 5-H/\delta_{Eu} 3-H(CO)$ * можно рассчитать по формуле (1) исходя из разных предположений о геометрии молекулы (и расположения иона Eu^{3+}). В частности, предполагая молекулы соединений плоскими и заместители при амидной связи — в *транс*-ориентации, мы получили для конформации (ж) с *s-cis*-ориентацией связей C4=C5 и NH—CO величину $\delta_{Eu} 5-H/\delta_{Eu} 3-H(CO) \approx 3,8$; для конформации (з) с *транс*-ориентацией тех же связей $\delta_{Eu} 5-H/\delta_{Eu} 3-H(CO) \approx 0,27$ **.

* В скобках указана группа, координация ПСР по которой принимается во внимание.

** Предполагалось, что ион Eu^{3+} находится на расстоянии 3 Å от атома кислорода и ось Eu—O образует угол 140° со связью C=O [8].

Оценку величины $\delta_{Eu} \text{ 5-H} / \delta_{Eu} \text{ 3-H(CO)}$, основанную на экспериментальных данных, можно получить, учитывая, что парамагнитный сдвиг протонов группы CH_2 этильного заместителя в соединениях (VIa) и (VIIб) определяется главным образом влиянием иона Eu^{3+} сдвигающего реагента, координированного по группе COOEt , т. е. тем же фактором, что и в модельных соединениях (IIa) и (IIб).

Индукированные ПСР химические сдвиги протонов в соединениях (IIa), (IIб), (VIa) и (VIIб), отнесенные к индуцированному сдвигу метиленовых протонов группы COOEt в тех же соединениях, представлены в табл. 4.

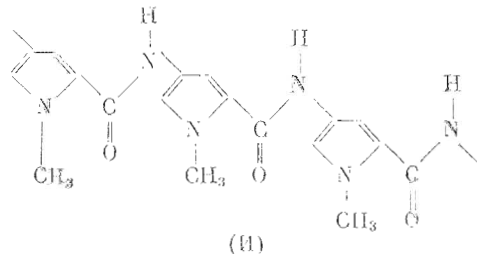
Разность относительных сдвигов* аналогичных протонов в соединениях (IIa) и (VIa) или (IIб) и (VIIб) соответственно характеризует приближенно относительный сдвиг, индуцированный ионом Eu^{3+} , координированным по карбонилу амидной группы. Найденное таким образом по данным табл. 4 отношение $\delta_{Eu} \text{ 5-H} / \delta_{Eu} \text{ 3-H(CO)}$ оказалось для соединений (VIa) и (VIIб) соответственно 2,8 и 2,0.

Сопоставление этих величин с вычисленными для двух конформаций величинами 3,8 и 0,27 однозначно указывает на предпочтительность для соединений (VIa) и (VIIб) конформера с *цис*-ориентацией связей $\text{C4}=\text{C5}$ и $\text{NH}-\text{CO}$ [конформер (Ж)].

Эта же конформация с *цис*-расположением связей $\text{C4}=\text{C5}$ и $\text{NH}-\text{CO}$ относительно связи $\text{C4}-\text{NH}$, вероятно, предпочтительна и для других соединений, содержащих два или три пиррольных ядра. Об этом свидетельствуют близкие значения химических сдвигов протонов $\text{N1}-\text{CH}_3$, 3-Н и 5-Н пиррольного ядра «С» в соединениях (VIIa), (Xa), (XI) (табл. 2, 3) и рассмотренного выше бензоильного производного (VIa). Аналогичный вывод следует из сопоставления химических сдвигов протонов 3-Н и 5-Н в *N*-изоамильных производных (VIIб), (Xб) и (VIIб).

Таким образом, проведенное рассмотрение величин химических сдвигов и отношения парамагнитных сдвигов протонов пиррольных ядер и заместителя при N1 в производных 1-алкил-4-нитропиррол-2-карбоновой кислоты показало, что для фрагмента молекулы дистамицина А, состоящего из двух пиррольных ядер, предпочтительной относительно связи $\text{C2}-\text{CO}$ является *s-trans*-конформация с *транс*-ориентацией связи $\text{C2}=\text{C3}$ и $\text{C}=\text{O}$; относительно амидной связи $\text{CO}-\text{NH}$ предпочтительна конформация с *транс*-ориентацией связей $\text{C2}-\text{CO}$ и $\text{NH}-\text{C4}$, а относительно связи $\text{NH}-\text{C4}$ предпочтительна конформация с *цис*-ориентацией связей $\text{NH}-\text{CO}$ и $\text{C4}=\text{C5}$.

С учетом всего вышесказанного можно заключить, что для олигопирролкарбоксамидного остова молекулы дистамицина А предпочтительна конформация (II):



Предпочтительность указанной конформации в среде с высокой диэлектрической проницаемостью — диметилформамиде — дает основание предполагать, что и в водных растворах дистамицина А эта же конформация (II) представлена в достаточно высокой относительной концентрации.

* Т. е. парамагнитных сдвигов, выраженных в единицах парамагнитного сдвига метиленовых протонов группы COOEt в том же соединении.

В заключение следует отметить, что предпочтительная конформация хромофора дистамицина А в растворе, установленная в данной работе, свидетельствует в пользу предложенной ранее модели комплекса дистамицин А — ДНК [9, 10].

Экспериментальная часть

Температуру плавления определяли на приборе фирмы Electrothermal (Англия) (не исправляли). Гидрирование проводили при комнатной температуре и атмосферном давлении над катализатором Адамса [11]. Индивидуальность полученных соединений контролировали с помощью ТСХ на пластинках Silufol UV-254 (ЧССР) в следующих системах: А — *n*-бутанол — уксусная кислота — вода (4 : 1 : 1); Б — 1 М ацетат аммония (рН 7,6) — 96% этанол (3 : 7); В — изопропанол — конц. водный аммиак — вода (7 : 1 : 3); Г — хлороформ — абс. этанол (95 : 5). Для элементного анализа вещества высушивали 8 ч над P₂O₅ при 1 мм рт. ст. и 50—100°.

Спектры ¹H-ЯМР сняты на спектрометре Varian XL-100 и Jeol JNM-4H-100 с рабочей частотой 100 МГц и Jeol C-60H с рабочей частотой 60 МГц. В качестве растворителя использован диметилформамид-*d*₇; соединения (IIa), (IIб), (VIa), (VIIб) изучены с добавками ПСР — Eu(DPM)₃ в хлороформе-*d*₁. Внутренний стандарт — тетраметилсилан (δ 0,00).

Этиловый эфир 4-нитропиррол-2-карбоновой кислоты (I). К смеси 50 г (0,32 моль) тонкоизмельченного натриятромалонового диальдегида [12] и 80 г (0,57 моль) хлоргидрата этилового эфира глицина (Reanal, Венгрия) прибавляли 150 мл 60% водного этанола и 67 мл 5 н. NaOH. Смесь интенсивно перемешивали 10 мин при 50°, добавляли 800 мл воды и оставляли при 0° на ночь. Осадок отфильтровывали, промывали холодной водой. Выход соединения (I) 49,3 г (83%), т. пл. 175,5—176,5°, R_f 0,85 (А), 0,76 (Б), 0,28 (Г) (данные работы [3]: т. пл. 174°).

Npc(Me)-Cl (Va). 10 г (59 моль) Npc(Me)-OH (IIa) [1] кипятили 1 ч с 30 мл SOCl₂, раствор упаривали досуха, остаток несколько раз упаривали с сухим бензолом и полученный хлорангидрид (Va) без перекристаллизации использовали для последующих реакций. R_f 0,74 (А), 0,78 (Б), 0,68 (Г).

H-Apc(Me)-OEt · 1/2H₂SO₄ (IVa). 5,0 г (25 ммоль) Npc(Me)-OEt (IIa) [13] гидрировали над 2 г катализатора в смеси 100 мл этанола и 0,8 мл H₂SO₄. Выпавший осадок растворяли в метаноле и катализатор отфильтровывали. Раствор упаривали до объема 30 мл и оставляли при 0° на ночь. Осадок отфильтровывали и промывали холодным этанолом. Выход соединения (IVa) 2,8 г (48%), т. пл. 182—184°, R_f 0,33 (А), 0,69 (Б), 0,11 (Г) (данные работы [13]: т. пл. 185°).

C₆H₅CO-Apc (Me)-OEt (VIa). 0,37 г (1,6 ммоль) аминоэфира (IVa) суспендировали в 10 мл абс. тетрагидрофурана и прибавляли 0,7 мл (5 ммоль) триэтиламина и 0,23 г (1,6 ммоль) хлористого бензоила. Смесь перемешивали 24 ч, раствор упаривали, остаток промывали водой и перекристаллизовывали из этанола. Выход соединения (VIa) 0,36 г (82%), т. пл. 136—137°, R_f 0,78 (А), 0,83 (Б), 0,49 (Г). Найдено, %: С 66,48; Н 6,24; N 10,38. C₁₅H₁₆O₃N₂. Вычислено, %: С 66,16; Н 5,92; N 10,29.

Npc(Me)-Apc(Me)-OEt (VIIa). К раствору 2,2 г (9,6 ммоль) аминоэфира (IVa) в 30 мл воды прибавляли 4,2 мл (30 ммоль) триэтиламина и раствор 2 г (9,6 ммоль) хлорангидрида (Va) в 40 мл бензола. Смесь интенсивно перемешивали 2 ч, осадок отфильтровывали, промывали бензолом, этанолом, эфиром и перекристаллизовывали из этилацетата. Выход соединения (VIIa) 2,9 г (94%), т. пл. 239—240°, R_f 0,79 (А), 0,81 (Б), 0,87 (В), 0,32 (Г). Найдено, %: С 52,55; Н 5,04; N 17,07. C₁₄H₁₆O₅N₄. Вычислено, %: С 52,49; Н 5,04; N 17,49.

Npc(Amⁱ)-OEt (IIб). К раствору 0,22 моль алкоголята натрия в 100 мл абс. этанола прибавляли 30 г (0,16 моль) нитроэфира (I) и после растворения вещества прибавляли 40 мл свежеперегнанного иодистого изоамила. Раствор кипятили 15 ч и оставляли на 48 ч при -10° . Осадок отфильтровывали, промывали холодным гексаном. Выход соединения (IIб) 25 г (59%), т. пл. $46-47^{\circ}$, после перекристаллизации из гексана и из этанола т. пл. $47-48^{\circ}$, R_f 0,98 (А), 0,85 (Б), 0,78 (Г). Найдено, %: С 56,20; Н 6,98; N 10,99. $C_{12}H_{18}N_2O_4$. Вычислено, %: С 56,68; Н 7,14; N 11,02.

Npc(Amⁱ)-OH (IIIб). 15 г (59 ммоль) соединения (IIб) суспендировали в смеси 100 мл 60% водного этанола и 50 мл 5 н. NaOH и интенсивно перемешивали при 50° в течение 1 ч (осадок полностью растворялся), охлаждали и нейтрализовали конц. HCl до pH 2. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой. Выход соединения (IIIб) 12,1 г (91%), т. пл. $153-155^{\circ}$, после перекристаллизации из бензола и из водного этанола т. пл. $154-156^{\circ}$, R_f 0,82 (Б), 0,28 (Г). Найдено, %: С 53,14; Н 5,91; N 12,36. $C_{10}H_{14}O_4N_2$. Вычислено, %: С 53,09; Н 6,24; N 12,38.

Npc(Amⁱ)-Apc(Amⁱ)-OEt (VIIб). 8,0 г (31,5 ммоль) соединения (IIб), растворенного в смеси 50 мл этанола и 3 мл конц. HCl, гидрировали над 1 г катализатора. Катализатор отфильтровывали и раствор упаривали. Остаток растворяли в 100 мл воды, добавляли 14 мл (100 ммоль) триэтиламина и раствор хлорангидрида (Vб) в 50 мл гексана, полученного аналогично описанному выше для хлорангидрида (Va), из 7,2 г (32 ммоль) нитроокислоты (IIIб). Смесь интенсивно перемешивали в течение 5 ч, осадок отфильтровывали, промывали холодным гексаном. Выход соединения (VIIб) 10,2 г (75%), т. пл. $137-142^{\circ}$, после перекристаллизации из смеси гексан — этанол т. пл. $139-142^{\circ}$, R_f 0,68 (Б), 0,73 (Г). Найдено, %: С 61,36; Н 7,39; N 13,01. $C_{22}H_{32}O_5N_4$. Вычислено, %: С 61,09; Н 7,46; N 12,96.

Npc(Amⁱ)-Apc(Amⁱ)-OH (VIIIб). 6,5 г (15 ммоль) нитроэфира (VIб) суспендировали в смеси 50 мл этанола и 20 мл 5 н. NaOH, перемешивали 3 ч при 60° и упаривали. Остаток растворяли в 200 мл воды и нейтрализовали конц. HCl до pH 2, осадок отфильтровывали, промывали водой. Выход соединения (VIIIб) 6,0 г (98%), т. пл. $190-193^{\circ}$, после перекристаллизации из смеси этилацетат — октан т. пл. $192-194^{\circ}$, R_f 0,87 (Б), 0,24 (В). Найдено, %: С 59,29; Н 7,02; N 13,84. $C_{20}H_{28}O_5N_4$. Вычислено, %: С 59,39; Н 6,98; N 13,85.

Npc(Me)-MeApc(Me)-OH (XIa). 3,0 г (126 ммоль) гидрида натрия суспендировали в 30 мл абс. диметилформамида при 30° , через 15 мин добавляли раствор 4,0 г (12,6 ммоль) нитроэфира (VIIa) в 30 мл абс. диметилформамида. Раствор перемешивали 15 мин при 30° и добавляли 10 мл иодистого метила. Смесь перемешивали 2 ч при 20° , выливали в 1,5 л холодной воды, содержащей 10 мл уксусной кислоты, и вещество экстрагировали хлороформом (3 \times 200 мл). Экстракт промывали водой, высушивали над Na_2SO_4 и упаривали. Остаток растворяли в смеси 60 мл метанола и 60 мл эфира и оставляли при 0° на несколько суток. Выпавший осадок отфильтровывали, промывали эфиром (выход 2,6 г), суспендировали 1 ч в смеси 20 мл этанола и 30 мл 2 н. NaOH при 70° . Раствор охлаждали и нейтрализовали конц. HCl до pH 2. Осадок отфильтровывали и промывали водой. Выход соединения (XIa) 2,0 г (52%), после перекристаллизации из этанола т. пл. $210-212^{\circ}$, R_f 0,72 (А), 0,73 (Б), 0,19 (Г). Найдено, %: С 50,53; Н 4,49; N 18,11. $C_{13}H_{14}O_5N_4$. Вычислено, %: С 50,98; Н 4,61; N 18,29.

Npc(Me)-NH₂ (XIIIa). Раствор 1,0 г (5,3 ммоль) хлорангидрида (Va) в 10 мл бензола охлаждали до 0° и по каплям прибавляли при 0° к 10 мл насыщенного раствора аммиака в абс. этаноле. Через 30 мин осадок отфильтровывали, промывали эфиром и после высушивания на воздухе перекристаллизывали из метанола. Выход соединения (XIIIa) 0,7 г (78%), т. пл. $229-230^{\circ}$, R_f 0,69 (А), 0,76 (Б), 0,11 (Г). Найдено, %:

C 42,35; H 4,24; N 24,25. $C_6H_7O_3N_3$. Вычислено, %: C 42,60; H 4,17; N 24,85.

Npc(Me)-NHCH₃ (XIVa). Раствор 1,0 г (5,3 ммоль) хлорангидрида (Va) в 10 мл бензола добавляли по каплям к охлажденному до 0° раствору 1,0 г (32 ммоль) CH_3NH_2 в 20 мл бензола. Через 30 мин осадок отфильтровывали, промывали бензолом, водой и перекристаллизовывали из метанола, а потом из бензола. Выход соединения (XIVa) 0,78 г (80%), т. пл. 207—208°, R_f 0,66 (A), 0,77 (B), 0,21 (Г). Найдено, %: C 46,14; H 4,84; N 22,75. $C_7H_9O_3N_3$. Вычислено, %: C 45,90; H 4,95; N 22,94.

Npc(Me)-N(CH₃)₂ (XVa). Раствор 3,4 г (18 ммоль) хлорангидрида (Va) в 50 мл бензола прибавляли к 10% водному раствору $HN(CH_3)_2$ (50 мл) и смесь интенсивно перемешивали 2 ч. Осадок отфильтровывали, промывали водой и перекристаллизовывали из бензола, а потом из этанола. Выход соединения (XVa) 1,9 г (54%), т. пл. 160—162°, R_f 0,53 (A), 0,65 (B), 0,32 (Г). Найдено, %: C 48,62; H 5,54; N 21,01. $C_8H_{11}N_3O_3$. Вычислено, %: C 48,72; H 5,62; N 21,31.

Npc(Me)-NHCH₂CH₃ (XVIa). К раствору 1,0 г (5,3 ммоль) хлорангидрида (Va) в 20 мл бензола по каплям прибавляли 5 мл анилина. Через 3 ч выпавший осадок отфильтровывали, промывали бензолом и перекристаллизовывали из метанола. Выход соединения (XVIa) 0,94 г (72%), т. пл. 219—221°; R_f 0,78 (A), 0,85 (B), 0,47 (Г). Найдено, %: C 58,14; H 4,87; N 17,70. $C_{12}H_9O_3N_3$. Вычислено, %: C 58,77; H 4,52; N 17,14.

Npc(Me)-NHCH₂CH₂CH₃ (XVIIa). К раствору 2,0 г (10,6 ммоль) хлорангидрида (Va) в 15 мл бензола при непрерывном перемешивании прибавляли раствор 2,6 г (24,3 ммоль) *n*-толуидина в 10 мл бензола. Через 30 мин прибавляли 15 мл этанола и охлаждали до 0°. Осадок отфильтровывали, промывали бензолом и перекристаллизовывали из этанола. Выход соединения (XVIIa) 2,4 г (87%), т. пл. 194—196°, после перекристаллизации из метанола т. пл. 195—197°, R_f 0,82 (A), 0,81 (B), 0,47 (Г). Найдено, %: C 60,21; H 5,21; N 16,41. $C_{13}H_{13}O_3N_3$. Вычислено, %: C 60,22; H 5,05; N 16,21.

Npc(Me)-N(CH₃)C₆H₄CH₃ (XVIIIa). 0,24 г (10 ммоль) гидрида натрия суспендировали в 10 мл абс. диметилформамида при 30° в течение 15 мин и прибавляли раствор 0,80 г (3,1 ммоль) соединения (XVIIa) в 10 мл абс. диметилформамида. Через 15 мин к смеси по каплям прибавляли 3 мл CH_3I . Суспензию перемешивали 2 ч при 20°, выливали в 300 мл воды, содержащей 3 мл уксусной кислоты, и продукт реакции экстрагировали хлороформом (3×50 мл). Экстракт промывали водой, высушивали над Na_2SO_4 и упаривали досуха. Остаток перекристаллизовывали из водного метанола. Выход соединения (XVIIIa) 0,80 г (94%), т. пл. 113—115°. После перекристаллизации из 50% водного этанола т. пл. 113,5—114,5°, R_f 0,77 (A), 0,77 (B), 0,50 (Г). Найдено, %: C 61,90; H 5,52; N 15,92. $C_{14}H_{15}O_3N_3$. Вычислено, %: C 61,53; H 5,53; N 15,38.

Npc(Me)-Apc(Me)-Apc(Me)-OEt (Xa). 4,0 г (12,5 ммоль) нитроэфира (VIIa) гидрировали над 1 г катализатора в 100 мл этанола. Катализатор отфильтровывали, к раствору прибавляли 2,1 мл (15 ммоль) триэтиламина и раствор 2,9 г (14 ммоль) хлорангидрида (Va) в 50 мл этанола и перемешивали 5 ч. Осадок отфильтровывали, промывали этанолом и эфиром. Выход соединения (Xa) 4,5 г (85%), т. пл. 250—252°, R_f 0,79 (A), 0,85 (B), 0,18 (Г). Найдено, %: C 54,22; H 5,14; N 18,79. $C_{20}H_{12}O_6N_6$. Вычислено, %: C 54,29; H 5,04; N 19,00.

Npc(Me)-Apc(Me)-Apc(Me)-OH (XIIa). 1,0 г (2,27 ммоль) нитроэфира (Xa) суспендировали 2 ч в смеси 30 мл диоксана и 30 мл 1 *n*. NaOH при 70°. Раствор охлаждали и нейтрализовали конц. HCl до pH 2. Осадок отфильтровывали, промывали водой, этанолом и эфиром. Выход соединения (XIIa) 0,89 г (95%), т. пл. 252—254° (с разл.). После перекристаллизации из диоксана т. пл. 254—254,5° (с разл.), R_f 0,79 (B), 0,77 (B), 0,08 (Г). Найдено, %: C 52,04; H 4,57; N 19,78. $C_{18}H_{38}O_6N_6$. Вычислено, %: C 52,17; H 4,38; N 20,28.

Npc(Amⁱ)-Apc(Amⁱ)-Apc(Amⁱ)-OEt (Xб). 2,0 г (4,62 ммоль) нитроэфира (VIIб) гидрировали над 0,5 г катализатора в смеси 15 мл этанола и 0,4 мл конц. водной HCl. Катализатор отфильтровывали и раствор упаривали. Остаток растворяли в смеси 60 мл этанола, 50 мл воды и 2,1 мл триэтиламина. Хлорангидрид (Vб), приготовленный в условиях получения вещества (Va) из 5,5 ммоль соединения (IIIб), растворяли в 50 мл гексана и прибавляли к раствору аминокомпоненты. Смесь интенсивно перемешивали 3 ч при 20°, упаривали до 1/2 от первоначального объема и вещество экстрагировали этилацетатом. Раствор после высушивания над Na₂SO₄ упаривали, масло растворяли в метаноле и наносили на колонку (2 × 115 см) с сефадексом LH-20. Элюцию проводили при 0° метанолом со скоростью 15 мл/ч. Фракции, содержащие соединение (Xб), упаривали до небольшого объема, оставляли при 0° и выпавший осадок отфильтровывали. Выход соединения (Xб) 1,45 г (51%), т. пл. 157—159°, *R_f* 0,92 (A), 0,91 (B), 0,47 (Г). Найдено, %: С 62,90; Н 7,51; N 13,41. C₃₂H₄₆O₆N₆. Вычислено, %: С 62,93; Н 7,59; N 13,76.

ЛИТЕРАТУРА

1. Гроховский С. Л., Жузе А. Л., Готтих Б. П. (1975) Биоорган. химия, 1, 1616—1623.
2. Zimmer Ch. (1975) Progr. Nucleic Acids Res. and Mol. Biol., 15, 285—318.
3. Hale W. J., Hoyt W. V. (1915) J. Amer. Chem. Soc., 37, 2538—2552.
4. Гроховский С. Л., Жузе А. Л., Готтих Б. П. (1978) Биоорган. химия, 4, 1078—1086.
5. Montaudo G., Librando V., Caccamese S., Maravigna P. (1973) J. Amer. Chem. Soc., 95, 6365—6370.
6. Stewart W. E., Siddall T. H. (1970) Chem. Rev., 70, 517—551.
7. Слоним И. Я., Булай А. X. (1973) Усп. химии, 42, 1976—2006.
8. Finocchiaro P., Recca A., Maravigna P., Montaudo G. (1974) Tetrahedron, 30, 4159—4169.
9. Заседателев А. С., Жузе А. Л., Циммер К., Гроховский С. Л., Туманян В. Г., Гурский Г. В., Готтих Б. П. (1976) Докл. АН СССР, 231, 1006—1009.
10. Gursky G. V., Tumanyan V. G., Zasedatelev A. S., Zhuze A. L., Grokhovskiy S. L., Gottikh B. P. (1977) in: Nucleic Acid — Protein Recognition (Vogel H. J., ed.), pp. 189—217, Acad. Press, New York.
11. Синтезы органических препаратов (1949) 1, с. 357—364, ИЛ, М.
12. Синтезы органических препаратов (1953) 4, с. 345—346, ИЛ, М.
13. Weiss M. J., Webb J. S., Smith J. M. (1957) J. Amer. Chem. Soc., 79, 1266.

Поступила в редакцию
27.XII.1977

DNA BASE PAIR SPECIFIC LIGANDS. II. STUDIES OF DISTAMYCIN A CHROMOPHORE STEREOCHEMISTRY BY ¹H-NMR SPECTROSCOPY

TURCHIN K. F., GROKHOVSKY S. L., ZHUZE A. L., GOTTIKH B. P.

*S. Ordzhonikidze All-Union Institute for Chemical
and Pharmacological Research, Moscow;
Institute of Molecular Biology, Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

Several model compounds containing one, two and three pyrrol rings linked by amide or methylamide bonds at positions 2 and 4 were synthesized and investigated by ¹H-NMR spectroscopy in order to study the stereochemistry of the chromophore moiety of the antiviral antibiotic distamycin A. The major conclusions are: i) the preferable conformation of C2=C3 and C=O bonds is *trans* relative to the C2—CO bond, ii) the preferable conformation of C2—CO and NH—C4 is *trans* relative to the CO—NH bond, iii) the preferable conformation of NH—CO and C4=C5 bonds is *cis* relative to the NH—C4 bond. These conformations are suggested to be predominant for distamycin A oligopyrrol carboxamide backbone.