



УДК 615.33 + 547.963.3

ЛИГАНДЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ СРОДСТВОМ К ОПРЕДЕЛЕННЫМ ПАРАМ  
ОСНОВАНИЙ ДНК

## III. СИНТЕЗ ДАНСИЛЬНЫХ АНАЛОГОВ ДИСТАМИЦИНА А\*

*Гроховский С. Л., Жузе А. Л., Готтлик Б. П.**Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва*

Для экспериментальной проверки предложенной ранее модели комплекса антибиотика дистамицина А с ДНК [2] синтезированы: 1) аналоги дистамицина А с двумя N-метилпирролкарбоксамидными фрагментами, содержащие вместо формильной ацетильную или бензоильную группу; 2) аналоги антибиотика с различным числом N-алкилпирролкарбоксамидных фрагментов, содержащие остаток дансилглицина вместо формильной группы \*\*. Обнаружена реакция декарбоксилирования при ацидолизе трет-бутилового эфира 1-метил-4-ациламинопиррол-2-карбоновой кислоты.

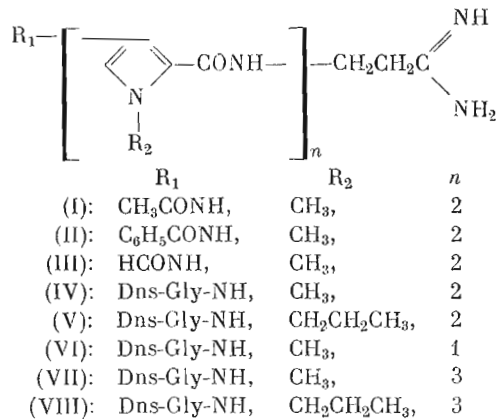
Согласно предложенной ранее модели комплекса дистамицина А с двуничатой ДНК [2], специфичность связывания этого антибиотика с А·Т-богатыми участками ДНК [3] объясняется образованием водородных связей между атомами O2 остатков тимина (или атомами N3 остатков аденина) и NH-группами амидных связей антибиотика. Для проверки этой модели весьма важным является определение констант связывания с ДНК дистамицина А и его аналогов с различным числом пирролкарбоксамидных фрагментов в молекуле, что позволило бы определить вклад каждого такого фрагмента во взаимодействие антибиотика с ДНК.

Поскольку дистамицин А обладает весьма большой константой связывания с ДНК [4], то оптическими методами не удастся измерить концентрацию свободного антибиотика даже при снятии изотерм адсорбции методом равновесного диализа. Кроме того, проведение равновесного диализа, требующего для достижения равновесия длительных промежутков времени, оказывается затруднительным вследствие нестабильности дистамицина А в водных растворах [5], а также из-за необходимости использования весьма больших количеств двуничатых полидезоксирибонуклеотидов. Все это побудило нас перейти для измерения констант связывания к использованию спектрофлуориметрии, поскольку этот метод позволяет работать с концентрациями свободного антибиотика,

\* Сообщение II см. [1].

\*\* В статье для обозначения 4-замещенных 1-алкилпиррол-2-карбоновых кислот, так же как для природных аминокислот, использованы трехбуквенные сокращения, а именно: Npc(Me) — остаток 1-метил-4-нитропиррол-2-карбоновой кислоты; Apc(Me) — остаток 1-метил-4-аминопиррол-2-карбоновой кислоты; Npc(Pr) — остаток 1-пропил-4-нитропиррол-2-карбоновой кислоты; Apc(Pr) — остаток 1-пропил-4-аминопиррол-2-карбоновой кислоты. Приняты также следующие сокращения: КДИ — N,N'-карбонилдимидазол; ДЦГК — N,N'-дигексилкарбодимид; ТЕАВ — бикарбонат триэтиламония, Dns — 5-диметиламинонафтилсульфонил-.

на несколько порядков меньшими, чем в случае использования методов КД и УФ-спектроскопии.



Для определения участка молекулы дистамицина А, в который можно было бы ввести флуоресцентную метку без потери его сродства к ДНК, предварительно были синтезированы аналоги (I) и (II). Выбор такого типа ацильных аналогов был обусловлен тем, что ранее Чандра и др. [6] обнаружили у аналога дистамицина А, содержащего вместо формильной группы циклопентилпропионильный остаток, ингибирующую активность в РНК-полимеразной системе. Сравнение *in vitro* связывания с ДНК этих аналогов (I) и (II) и аналога дистамицина А, содержащего два N-метилпирролкарбоксамидных фрагмента (III) [7], показало, что замена формильной группы на ацильную или бензоильную практически не влияет на связывание с ДНК, что находится в хорошем соответствии с предложенной моделью комплекса антибиотика с ДНК [2]. Эти данные свидетельствуют о возможности введения различных ацильных остатков в N-конец молекулы антибиотика.

Нами были синтезированы аналоги дистамицина А, содержащие различное число N-алкилпирролкарбоксамидных фрагментов и остаток дансилглицина вместо формильной группы. Синтез аналогов дистамицина А с флуоресцентной меткой (IV)—(VIII) был осуществлен по схемам 1—3.

Схема 1

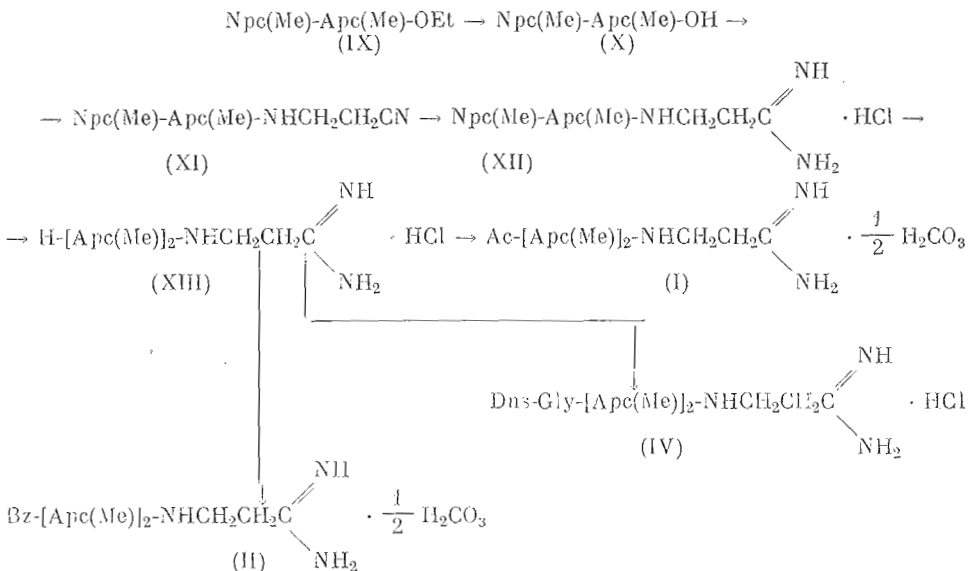
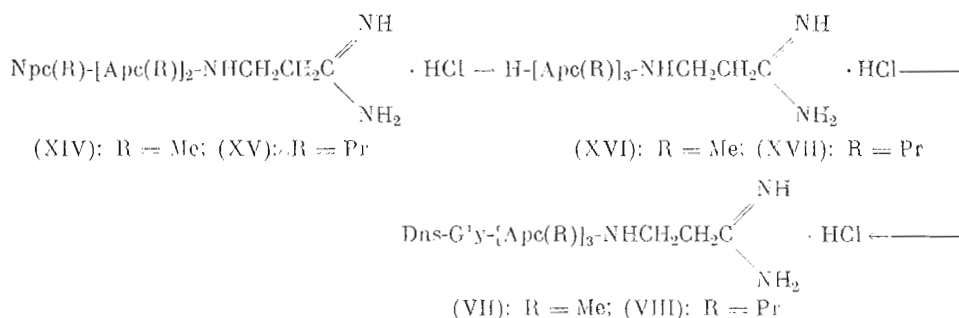


Схема 2

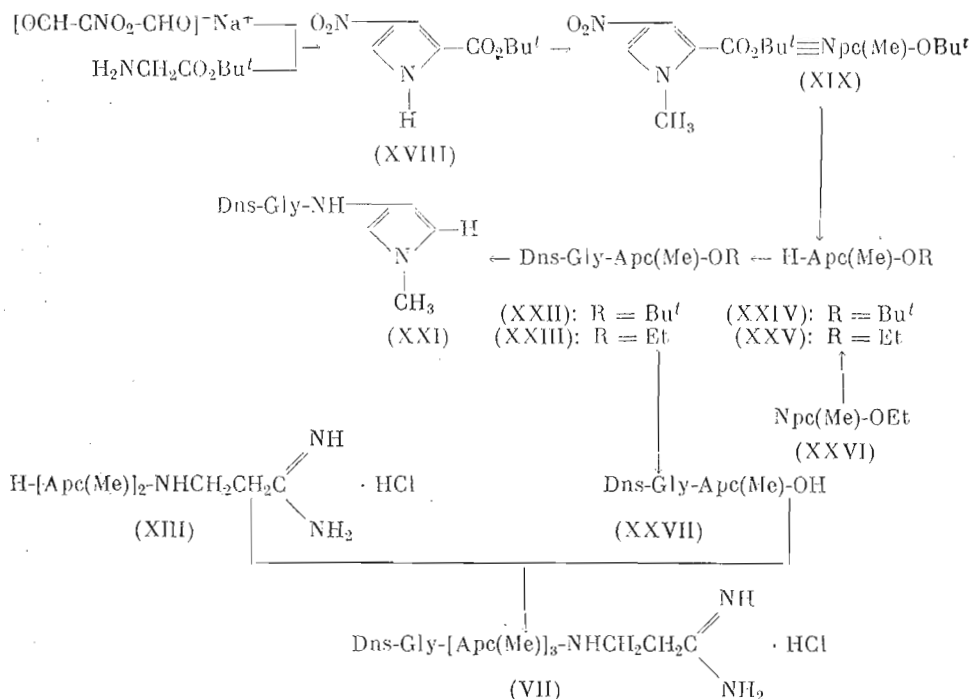


На схеме 1 приведен синтез аналогов дистамицина А с двумя N-метилпирролкарбоксамидными фрагментами (I), (II) и (IV), содержащих вместо формильного остатка различные ацильные заместители в левой части молекулы. В отличие от схемы, предложенной нами ранее [7] для синтеза соединения (XII), первоначально был получен нитроэфир (IX) [1] конденсацией хлорангирида 1-метил-4-нитропиррол-2-карбоновой кислоты с этиловым эфиром 1-метил-4-аминопиррол-2-карбоновой кислоты [1] и после его щелочного гидролиза нитрокислоту (X) конденсировали с помощью КДИ с β-аминопропионитрилом. Затем нитрил (XI) превращали по известному методу в хлоридат амидина (XII). После гидрирования соединения (XII) над катализатором Адамса хлоридат аминоамидина (XIII) без выделения ацилировали либо уксусным ангидридом (аналог (I)), либо бензоилхлоридом (аналог (II)) или конденсировали с дансилглицином с помощью КДИ с образованием аналога (IV). Дансильный аналог, содержащий в молекуле два N-пропилпиррольных остатка (V), был получен при конденсации соответствующего аминоамидина с дансилглицином с помощью КДИ.

Дансильный аналог с одним N-метилпиррольным ядром (VI) был получен гидрированием хлоридата нитроамидина Npc(Me)-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(=NH)NH<sub>2</sub>·HCl [7] и последующей конденсацией хлоридата аминоамидина с дансилглицином с помощью КДИ.

Для получения дансильных аналогов дистамицина А с тремя N-алкилпиррольными ядрами (VII) и (VIII) были использованы две разные схемы синтеза. Как видно из схемы 2, исходными веществами для синтеза в первом случае явились хлоридаты нитроамидинов, содержащие три N-метил- (XIV) или N-пропилпиррольных (XV) ядра [7]. При гидрировании нитроамидинов (XIV) и (XV) над катализатором Адамса были получены хлоридаты аминоамидинов (XVI) и (XVII) соответственно. Конденсация этих соединений с дансилглицином с помощью КДИ привела к аналогам (VII) и (VIII). В то время как N-пропильный аналог (VIII) был получен с выходом 32% (включая стадию гидрирования и конденсации), N-метильный аналог (VII) был синтезирован с выходом только 12%. Поэтому для синтеза соединения (VII) мы решили избрать другую схему, которая заключалась в конденсации аминоамидина (XIII) с соединением (XXVII), содержащим одно N-метилпиррольное ядро и остаток дансилглицина (схема 3). Для синтеза соединения (XXVII) первоначально нами была проведена конденсация натринитромалонowego диальдегида с *tert*-бутиловым эфиром глицина и полученный *tert*-бутиловый эфир 4-нитропиррол-2-карбоновой кислоты (XXVIII) после метилирования по гетероциклическому атому азота был каталитическим гидрированием превращен в соответствующий аминоэфир (XXIV). Конденсация последнего с дансилглицином с помощью КДИ привела к *tert*-бутиловому эфиру 1-метил-4-(дансилглициламино)-пиррол-2-карбоновой кислоты (XXII). Однако попытка использования трифторуксусной кислоты (20°, 30 мин) для отщепления *tert*-бутильной группы у соединения (XXII) привела к 1-метил-4-(дансилглициламино)-

Схема 3



пирролу (XXI) с почти количественным выходом. Аналогичная реакция декарбоксилирования происходила и при использовании 3% раствора бромистого водорода в ледяной уксусной кислоте (15 мин, 20°). Только при использовании 3,5 н. раствора хлористого водорода в диоксане (5 ч, 20°) удалось получить 1-метил-4-(дансилглициламино)пиррол-2-карбоновую кислоту (XXVII) с выходом 27%. Следует отметить, что реакция декарбоксилирования была обнаружена и при ацидолизе *tert*-бутилового эфира 1-метил-4-(ацетиламино)пиррол-2-карбоновой кислоты. В результате реакции с трифторуксусной кислотой был выделен 1-метил-4-(ацетиламино)пиррол, описанный ранее [8]. В связи с этим для синтеза соединения (XXVII) мы выбрали другой путь. Этиловый эфир 1-метил-4-аминопиррол-2-карбоновой кислоты (XXVI), полученный гидрированием соответствующего нитроэфира (XXV), конденсировали с дансилглицином с помощью ДЦГК и соединение (XXIII) без выделения подвергли щелочному гидролизу. Суммарный выход соединения (XXVII) по этой схеме составил 37%. Его конденсация с хлоргидратом соответствующего аминоконида (XIII), полученного по схеме 1, привела к *N*-метильному аналогу (VII) с выходом 38%.

Изотермы адсорбции на ДНК флуоресцентных аналогов дистамицина А и значения соответствующих констант связывания опубликованы отдельно [9].

### Экспериментальная часть

Растворы веществ в органических растворителях высушивали над  $\text{Na}_2\text{SO}_4$ , растворители упаривали в вакууме (при 15 или 1 мм рт. ст., в зависимости от растворителя) при 20–25°. Гидрирование проводили при комнатной температуре и атмосферном давлении над катализатором Адамса [10]. 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  $P_2O_5$  при 1 мм рт. ст. и 50—100°. Температуру плавления определяли на приборе фирмы Electrothermal (Англия) (не исправляли). УФ-спектры снимали на УФ-спектрофотометре Beckman-25 (США). При колоночной хроматографии использовали карбоксиметилцеллюлозу CM-32 (Whatman, Англия) и сефадекс LH-20 (Pharmacia, Швеция). Контроль элюатов осуществляли с помощью УФ-регистрирующего проточного денситометра Uvicord LKB-4701 А (Швеция). Спектры ПМР снимали на ЯМР-спектрометре Varian XL-100 (США) при рабочей частоте 100 МГц с гексаметилдисилоксаном в качестве внутреннего стандарта. Условные обозначения: с — синглет, д — дублет, т — триплет, м — мультиплет. Масс-спектр получен на приборе MS 1302 (СКБ АП АН СССР, Ленинград).

*Npc(Me)-Arc(Me)-OH (X)*. 6,0 г (19 ммоль) *Npc(Me)-Arc(Me)-OEt (IX)* [1] суспендировали в смеси 120 мл диоксана и 120 мл 1 н. NaOH, перемешивали 1 ч при 70° и к полученному раствору добавляли при охлаждении 6 н. HCl до рН 2. После охлаждения до 0° осадок отфильтровывали, промывали водой, этанолом и эфиром. Выход соединения (X) 4,8 г (88%), т. пл. 232—234° (с разл.). После перекристаллизации из смеси этилацетат — диоксан (1 : 1) т. пл. 233—234° (с разл.),  $R_f$  0,79 (Б), 0,40 (Г). Найдено, %: С 49,09; Н 4,49; N 19,13.  $C_{12}H_{12}O_5N_4$ . Вычислено, %: С 49,31; Н 4,14; N 19,17.

*Npc(Me)-Arc(Me)-NHCH\_2CH\_2CN (XI)*. 2,9 г (10 ммоль) нитроокислоты (X) растворяли в 50 мл абс. диметилформаида, добавляли 12 ммоль КДИ [11] и через 30 мин к суспензии добавляли 3,0 г (43 ммоль) β-аминопропионитрила [12]. Смесь перемешивали 72 ч при 20°, упаривали, масло растворяли в 500 мл кипящего метанола, отфильтровывали и раствор оставляли при 0° на 2 сут. Осадок отфильтровывали, промывали метанолом, эфиром. Выход соединения (XI) 2,75 г (82%), т. пл. 249—253°,  $R_f$  0,77 (Б), 0,32 (Г) (данные работы [13]: т. пл. 254—255°).

*Npc(Me)-Arc(Me)-NHCH\_2CH\_2C(=NH)NH\_2 · HCl (XII)*. 7,0 г (21 ммоль) нитрила (XI) суспендировали в 150 мл абс. этанола, насыщали при 0° сухим HCl и оставляли на ночь. Реакционную смесь упаривали досуха, остаток несколько раз упаривали с абс. этанолом и абс. эфиром, суспендировали в 150 мл абс. этанола и через взвесь пропускали сухой  $NH_3$  до насыщения. Смесь оставляли при 0° на ночь, упаривали, остаток несколько раз упаривали с абс. этанолом и абс. эфиром и перекристаллизовывали из 50% водного этанола. Выход соединения (XII) 8,1 г (97%), т. пл. 321—323° (с разл.),  $R_f$  0,32 (А), 0,46 (Б), 0,09 (В) (данные работы [14]: т. пл. 324—325°).

$CH_3CO-[Arc(Me)]_2-NHCH_2CH_2C(=NH)NH_2 \cdot \frac{1}{2} H_2CO_3 (I)$ . 2,0 г (5 ммоль) нитроамидина (XII) суспендировали в 20 мл 80% водной уксусной кислоты и гидрировали над 0,5 г катализатора. Катализатор отфильтровывали, раствор упаривали досуха и к остатку прибавляли 3 мл уксусного ангидрида. Через 2 ч к реакционной массе прибавляли 50 мл метанола и оставляли на ночь при 20°. Растворитель упаривали, остаток растворяли в 100 мл воды и наносили на колонку (3 × 30 см) с целлюлозой CM-32 ( $Et_3NH^+$ -форма). Колонку промывали 1 л 0,1 М ТЕАВ (рН 8) и вещество элюировали со скоростью 60 мл/ч, используя линейный градиент ТЕАВ (1 л 0,1 М — 1 л 1,2 М). Соединение (I) элюировалось при концентрации ТЕАВ ≈ 0,8 М. Фракции, содержащие соединение (I), объединяли и упаривали. Остаток несколько раз упаривали с абс. этанолом, растворяли в метаноле и наносили на колонку (2 × 115 см) с сефадексом LH-20. Элюцию проводили метанолом при 4° со скоростью 10 мл/ч. Фракции, содержащие соединение (I), упаривали, растворяли в воде и лиофилизировали. Выход соединения (I) 0,53 г (26%),  $R_f$  0,18 (А), 0,48 (Б), 0,09 (В),  $\epsilon_{265}$   $1,4 \cdot 10^4$ ,  $\epsilon_{297}$   $2,2 \cdot 10^4$  ( $H_2O$ ). Найдено, %: С 51,95; Н 6,44.

$C_{17}H_{23}O_3N_7 \cdot \frac{1}{2} H_2CO_3$ . Вычислено, %: С 51,97; Н 5,98. Спектр ПМР (в  $CD_3OD$ ;  $\delta$ , м. д.): 7,19 д ( $J \approx 2$  Гц), 7,14 д ( $J \approx 2$  Гц) (5-Н<sup>А</sup>, 5-Н<sup>В</sup>); 6,87 д, 6,85 д (3-Н<sup>А</sup>, 3-Н<sup>В</sup>); 3,84 с, 3,82 с (N-CH<sub>3</sub><sup>А</sup>, N-CH<sub>3</sub><sup>В</sup>); 3,62 (NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, т); 2,54 (NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, т,  $J \approx 7$  Гц); 2,08 (CH<sub>3</sub>CO, с).

$C_6H_5CO-[Apc(Me)]_2-NHCH_2CH_2C(=NH)NH_2 \cdot \frac{1}{2} H_2CO_3$  (II). 2,0 г (5 ммоль) пнтроамидина (XII) суспендировали в 20 мл 80% водной уксусной кислоты и гидрировали над 0,5 г катализатора. Катализатор отфильтровывали и раствор упаривали досуха. Остаток упаривали несколько раз с сухим бензолом, затем растворяли в 30 мл этанола, содержащего 4,2 мл (30 ммоль) триэтиламина, и прибавляли 2,3 мл (20 ммоль) бензоилхлорида. Смесь оставляли при 20° на 15 ч, затем прибавляли 200 мл воды и раствор наносили на колонку (3 × 30 см) с целлюлозой CM-32 (Et<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>-форма). Условия хроматографирования такие же, как в предыдущем опыте. Фракции, содержащие соединение (II), объединяли и упаривали. Остаток несколько раз упаривали с абс. этанолом, растворяли в метаноле и хроматографировали на колонке с сефадексом LH-20 (условия разделения такие же, как в предыдущем опыте). Фракции, содержащие соединение (II), упаривали, растворяли в воде и лиофилизировали. Выход соединения (II) 0,42 г (18%),  $R_f$  0,27 (А), 0,44 (В). Спектр ПМР [в  $(CD_3)_2SO$ ;  $\delta$ , м. д.]: 7,97 м, 7,50 м ( $C_6H_5CO$ ); 7,38 д ( $J \approx 2$  Гц), 7,24 д ( $J \approx 2$  Гц), 7,13 д ( $J \approx 2$  Гц), 6,88 д ( $J \approx 2$  Гц) (5-Н<sup>А</sup>, 5-Н<sup>В</sup>, 3-Н<sup>А</sup>, 3-Н<sup>В</sup>); 3,90 с, 3,84 с (N-CH<sub>3</sub><sup>А</sup>, N-CH<sub>3</sub><sup>В</sup>); 3,48 (NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, т); 2,39 (NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, т,  $J \approx 7$  Гц).

*Dns-Gly-[Apc(Me)]\_2-NHCH\_2CH\_2C(=NH)NH\_2 \cdot HCl* (IV). 0,5 г (1,25 ммоль) пнтроамидина (XII) гидрировали в 10 мл 80% водной уксусной кислоты над 0,2 г катализатора. Катализатор отфильтровывали и фильтрат упаривали. Затем остаток упаривали несколько раз с абс. этанолом. Смесь 0,4 г (1,3 ммоль) дансилглицина (Reanal, Венгрия) и 1,3 ммоль КДИ растворяли в 1 мл абс. диметилформамида, через 5 мин раствор имидазолида прибавляли к аминокомпоненту и оставляли на 20 ч при 20°. Растворитель упаривали, масло растворяли в метаноле и наносили на колонку (3 × 150 см) с сефадексом LH-20. Элюцию проводили метанолом при 4° со скоростью 20 мл/ч. Фракции, содержащие соединение (IV), упаривали, растворяли в воде и лиофилизировали. Выход соединения (IV) 0,29 г (35%),  $R_f$  0,22 (А), 0,57 (В). Найдено, %: С 52,91; Н 5,51.  $C_{29}H_{28}O_5N_9SCl$ . Вычислено, %: С 52,56; Н 5,61.

*Dns-Gly-[Apc(Pr)]\_2-NHCH\_2CH\_2C(=NH)NH\_2 \cdot HCl* (V). 1,0 г (2,2 ммоль) Npc(Pr)-Apc(Pr)-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(=NH)NH<sub>2</sub>·HCl [7] гидрировали в смеси 10 мл этанола и 0,75 мл 6 н. HCl над 0,3 г катализатора. Катализатор отфильтровывали, к фильтрату прибавляли 0,7 мл (5 ммоль) триэтиламина и упаривали досуха. Затем остаток упаривали несколько раз с сухим бензолом. Смесь 0,93 г (3 ммоль) дансилглицина и 3 ммоль КДИ растворяли в 3 мл абс. диметилформамида и через 5 мин раствор имидазолида прибавляли к аминокомпоненту и оставляли на 20 ч при 20°. Растворитель упаривали, остаток растворяли в метаноле и дважды подвергали разделению на сефадексе LH-20 в условиях, аналогичных использованным в предыдущей методике. Выход соединения (V) 0,75 г (47%),  $R_f$  0,38 (А), 0,61 (В). Найдено, %: С 55,49; Н 6,63; N 17,24; S + Cl 9,69.  $C_{33}H_{44}O_5N_9SCl$ . Вычислено, %: С 55,49; Н 6,21; N 17,65; S + Cl 9,45.

*Dns-Gly-Apc(Me)-NHCH\_2CH\_2C(=NH)NH\_2 \cdot HCl* (VI). 1,0 г (3,6 ммоль) Npc(Me)-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(=NH)NH<sub>2</sub>·HCl [7] гидрировали в 10 мл 80% водной уксусной кислоты над 0,3 г катализатора и раствор упаривали. Затем остаток упаривали несколько раз с сухим бензолом. Смесь 1,4 г (4,5 ммоль) дансилглицина и 4,5 ммоль КДИ растворяли в 4 мл абс. диметилформамида и через 5 мин раствор имидазолида прибавляли к аминокомпоненту и оставляли при 20° на 20 ч. Реакционный раствор выливали в 300 мл сухого эфира. Выпавшее масло растворяли в 100 мл 20% водного этанола и наносили на колонку (3 × 30 см) с целлюлозой CM-32 (Et<sub>3</sub>NH<sup>+</sup>-форма). Колонку промывали 1 л 0,1 М ТЕАВ (рН 8), содержащим 20% этанола, и

элюировали, используя линейный градиент ТЕАВ (0,7 л 0,1 М — 0,7 л 1,2 М с 20% этанола), со скоростью 60 мл/ч. Соединение (VI) элюировалось при концентрации ТЕАВ  $\approx$  0,45 М. Фракции, содержащие соединение (VI), объединяли и упаривали, остаток несколько раз упаривали с абс. этанолом, растворяли в метаноле и наносили на колонку (2  $\times$  115 см) с сефадексом LH-20. Элюцию проводили метанолом при 4° со скоростью 10 мл/ч. Фракции, содержащие соединение (VI), объединяли, упаривали, растворяли в воде и наносили на колонку со смолой дауэкс 1  $\times$  10 (Cl<sup>-</sup>-форма). Соединение (VI) элюировали водой и раствор лиофилизировали. Выход соединения (VI) 0,67 г (35%),  $R_f$  0,18 (А), 0,52 (Б), 0,42 (В). Найдено, %: С 51,54; Н 5,84; S + Cl 12,34. C<sub>23</sub>H<sub>30</sub>O<sub>4</sub>N<sub>7</sub>SCl. Вычислено, %: С 51,53; Н 5,64; S + Cl 12,59.

*Трет-бутиловый эфир 4-нитропиррол-2-карбоновой кислоты (XVIII)*. К смеси 16 г (0,1 моль) натрнитромалонового диальдегида [15] и 26,4 г (0,12 моль) фосфита трет-бутилового эфира глицина [16] прибавляли 100 мл 60% водного этанола и 24 мл 20% водного NaOH. Суспензию интенсивно перемешивали при 50° 1 ч, добавляли 800 мл воды и оставляли на 20 ч при 0°. Осадок отфильтровывали, промывали водой. Выход соединения (XVIII) 19,5 г (91%), т. пл. 170—171° (с разл.). После перекристаллизации из бензола т. пл. 173—174° (с разл.),  $R_f$  0,93 (А), 0,86 (Б), 0,81 (Г). Найдено, %: С 51,20; Н 6,00; N 12,52. C<sub>9</sub>H<sub>12</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>. Вычислено, %: С 50,94; Н 5,70; N 13,20.

*Nrc(Me)-OBu<sup>t</sup> (XIX)*. 2,4 г (104 ммоль) натрия растворяли в 300 мл кипящего сухого трет-бутилового спирта. К полученному раствору прибавляли 18,7 г (83 ммоль) соединения (XVIII) и 100 мл иодистого метила. Раствор кипятили с обратным холодильником 7 ч и упаривали досуха. Остаток суспендировали в 300 мл воды и вещество экстрагировали эфиром (3  $\times$  100 мл). Эфирный экстракт промывали 5% раствором NaHCO<sub>3</sub>, высушивали и упаривали. Остаток перекристаллизовывали из 180 мл 75% водного метанола. Выход соединения (XIX) 16,5 г (84%), т. пл. 77,5—78,5°,  $R_f$  0,84 (А), 0,82 (Б), 0,72 (Г). Найдено, %: С 52,69; Н 6,11; N 12,24. C<sub>10</sub>H<sub>14</sub>O<sub>4</sub>N<sub>2</sub>. Вычислено, %: С 53,09; Н 6,24; N 12,38.

*Dns-Gly-Apc(Me)-OBu<sup>t</sup> (XXII)*. 5,0 г (22,1 ммоль) нитроэфира (XIX) гидрировали над 1 г катализатора в 25 мл 80% водной уксусной кислоты. Катализатор отфильтровывали и раствор упаривали. Затем остаток упаривали несколько раз с сухим бензолом. Смесь 7,7 г (25 ммоль) дансилглицина и 25 ммоль КДИ растворяли в 20 мл абс. диметилформамида. Через 10 мин раствор имидазолида прибавляли к аминоконпоненту и оставляли при 20° на 20 ч. Реакционный раствор упаривали, остаток растворяли в 50 мл метанола и оставляли на несколько суток при 0°. Выпавший осадок отфильтровывали и промывали холодным метанолом. Выход соединения (XXII) 3,2 г (30%), т. пл. 217—219°. После перекристаллизации из этилацетата т. пл. 217—218°,  $R_f$  0,81 (А), 0,96 (Б), 0,40 (Г). Найдено, %: С 59,49; Н 6,17; N 11,18; S 6,59. C<sub>24</sub>H<sub>30</sub>O<sub>5</sub>N<sub>4</sub>S. Вычислено, %: С 59,24; Н 6,21; N 11,52; S 6,59.

*1-Метил-4-(дансилглициламино)пиррол (XXI)*. 1,86 г (4,3 ммоль) соединения (XXII) растворяли в 10 мл безводной трифторуксусной кислоты, выдерживали 30 мин при 20° и упаривали при 20°. Образовавшееся масло растворяли в 10 мл метанола и охлаждали до 0°. Осадок отфильтровывали и промывали метанолом. Выход соединения (XXI) 1,75 г (94%), т. пл. 167—170°. После перекристаллизации из этанола т. пл. 168—169°,  $R_f$  0,64 (А), 0,79 (Б), 0,23 (Г). Найдено, %: С 59,03; Н 5,72; N 14,44; S 8,19. C<sub>19</sub>H<sub>22</sub>O<sub>3</sub>N<sub>4</sub>S. Вычислено, %: С 59,05; Н 5,74; N 14,50; S 8,30. Спектр ПМР [в (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO;  $\delta$ , м. д.]: 9,46 (NH, с), 8,52—8,08 м, 7,70—7,18 м (нафтил); 6,87 (5-Н, т); 6,50 (2-Н, т), 5,80 (3-Н, т); 3,61 (CH<sub>2</sub>, д,  $J \approx$  6 Гц); 3,52 (N-CH<sub>3</sub>, с); 2,84 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, с).  $m/e$ : 386 (M<sup>+</sup>)\*.

\* Авторы выражают благодарность В. М. Орлову за съемку масс-спектра.

*Dns-Gly-Apc(Me)-OH* (XXVII). а) 0,30 г (0,62 ммоль) соединения (XXII) растворяли в 30 мл 3,5 н. HCl в диоксане и оставляли на 5 ч при 20°. После упаривания остаток растворяли в 30 мл 5% раствора Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>. Раствор отфильтровывали, подкисляли 6 н. HCl до pH 2 и экстрагировали этилацетатом. Этилацетатный раствор промывали H<sub>2</sub>O, высушивали над Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали. Остаток растворяли в метаноле и наносили на колонку (1 × 115 см) с сефадексом LH-20. Элюцию проводили метанолом при 4° со скоростью 10 мл/ч. Фракции, содержащие соединение (XXVII), упаривали и вещество перекристаллизовывали из метанола. Выход соединения (XXVII) 0,07 г (27%), т. пл. 208—211°. По данным ТСХ и ПМР-спектроскопии, полученное вещество идентично соединению, полученному в опыте б.

б) 10 г (50,4 ммоль) Npc(Me)-OEt (XXVI) [7] гидрировали над 1 г катализатора в смеси 50 мл метанола и 6 мл конц. HCl. Катализатор отфильтровывали, промывали метанолом для растворения выпавшего осадка и фильтрат упаривали. Остаток растворяли в 100 мл абс. диметилформамида, содержащего 8 мл (57 ммоль) триэтиламина, прибавляли 16 г (51,9 ммоль) дансилглицина и затем 12 г (58,3 ммоль) ДЦГК. Смесь оставляли на 15 ч при 20°, упаривали, остаток растворяли в 100 мл метанола и осадок отфильтровывали. Фильтрат упаривали, к остатку прибавляли смесь 60 мл этанола и 60 мл 20% раствора NaOH и выдерживали 1 ч при 60°. Раствор упаривали до половины первоначального объема, фильтровали и добавляли при охлаждении конц. HCl до pH 2. Выпавшее масло отделяли, растворяли в 100 мл метанола и оставляли при 0° на ночь, осадок отфильтровывали. Выход соединения (XXVII) 8,1 г (37%), т. пл. 208—211°, R<sub>f</sub> 0,75 (A), 0,72 (B), 0,10 (Г). Спектр ПМР [в (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO; δ, м. д.]: 9,59 (NH, с); 8,45—8,00 м, 7,63—7,14 м (нафтил); 7,06 (5-H, д, J ≈ 2,5 Гц); 6,50 (3-H, д, J ≈ 2,5 Гц); 3,72 (N-CH<sub>3</sub>, с); 2,75 (N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>, с).

*Dns-Gly-[Apc(Me)]<sub>3</sub>-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(=NH)NH<sub>2</sub>·HCl* (VII). а) 0,52 г (1 ммоль) нитроамидина (XIV) [7] гидрировали над 0,3 г катализатора в 6 мл 80% водной уксусной кислоты. Катализатор отфильтровывали и раствор упаривали. Остаток упаривали несколько раз с сухим бензолом. Смесь 0,46 г (1,5 ммоль) дансилглицина и 1,5 ммоль КДИ растворяли в 1,5 мл абс. диметилформамида и через 5 мин раствор имидазолида прибавляли к аминокомпоненту и оставляли на 20 ч при 20°. Реакционную смесь выливали в 100 мл сухого эфира, выпавшее масло растворяли в метаноле и наносили на колонку (1 × 115 см) с сефадексом LH-20. Элюцию проводили метанолом при 4° со скоростью 5 мл/ч. Фракции, содержащие соединение (VII), объединяли и повторно хроматографировали в тех же условиях, затем упаривали, растворяли в воде и лиофилизовали. Выход соединения (VII) 0,09 г (12%), R<sub>f</sub> 0,24 (A), 0,59 (B). Спектр ПМР [в (CD<sub>3</sub>)<sub>2</sub>SO; δ, м. д.]: 8,2—8,6 м, 7,2—7,7 м (нафтил); 7,20 м, 7,04 м, 6,95 д, 6,85 д (5-H<sup>A</sup>, 5-H<sup>B</sup>, 5-H<sup>C</sup>, 3-H<sup>A</sup>, 3-H<sup>B</sup>, 3-H<sup>C</sup>); 3,80 м (N-CH<sub>3</sub>, NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>); 2,8 м (NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>, N(CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>).

б) 1,0 г (2,5 ммоль) нитроамидина (XII) гидрировали над 0,4 г катализатора в 10 мл 80% водной уксусной кислоты. Катализатор отфильтровывали, раствор аминокамидина (XIII) упаривали и остаток несколько раз упаривали с абс. бензолом. 0,75 г (1,74 ммоль) соединения (XXVII) и 1,8 ммоль КДИ растворяли в 2 мл абс. диметилформамида. Через 10 мин раствор имидазолида прибавляли к аминокамидину (XIII), оставляли на 48 ч при 20° и затем выливали в 150 мл сухого эфира. Выпавшее масло растворяли в метаноле и наносили на колонку (2 × 115 см) с сефадексом LH-20. Элюцию проводили метанолом при 4° со скоростью 15 мл/ч. Фракции, содержащие соединение (VII), объединяли и повторно хроматографировали в тех же условиях. Фракции, содержащие соединение (VII), упаривали, растворяли в воде и лиофилизовали. Выход соединения (VII) 0,52 г [38%, в расчете на соединение (XXVII)]. По данным ТСХ, УФ- и ЯМР-спектроскопии, полученное вещество идентично соединению, полученному в опыте а.



*Dns-Gly-[Apc(Pr)]<sub>3</sub>-NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>C(=NH)NH<sub>2</sub>·HCl (VIII)*. 0,60 г (1 ммоль) нитроамидина (XV) [7] гидрировали над 0,30 г катализатора в смеси 10 мл этанола и 0,5 мл 6 н. водной HCl. Катализатор отфильтровывали, к раствору добавляли 0,42 мл (3 ммоль) триэтиламина и раствор упаривали. Остаток несколько раз упаривали с сухим бензолом. Смесь 0,46 г (1,5 ммоль) дансилглицина и 1,5 ммоль КДИ растворяли в 1,5 мл абс. диметилформамида. Через 5 мин раствор имидазолида прибавляли к аминокомпоненту и оставляли на 15 ч при 20°. Реакционную смесь выливали в 100 мл сухого эфира, выпавшее масло растворяли в метаноле и наносили на колонку (2 × 115 см) с сефадексом LH-20. Элюцию проводили метанолом при 4° со скоростью 10 мл/ч. Фракции, содержащие соединение (VIII), объединяли, упаривали и повторно хроматографировали в тех же условиях. Фракции, содержащие соединение (VIII), упаривали, растворяли в воде и лиофилизировали. Выход соединения (VIII) 0,29 г (32%), *R<sub>f</sub>* 0,47 (A), 0,64 (B),  $\epsilon_{245}$  4,2 · 10<sup>4</sup>,  $\epsilon_{305}$  3,9 · 10<sup>4</sup> (метанол). Найдено, %: C 54,81; H 6,42; N 16,57; S + Cl 7,37. C<sub>41</sub>H<sub>54</sub>O<sub>6</sub>N<sub>11</sub>SCl. Вычислено, %: C 54,68; H 6,04; N 17,11; S + Cl 7,50.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Турчин К. Ф., Гроховский С. Л., Жузе А. Л., Готтих В. П. (1978) Биоорганическая химия, 4, 1065—1077.
2. Заседателев А. С., Жузе А. Л., Циммер К., Гроховский С. Л., Тумамян В. Г., Гурский Г. В., Готтих В. П. (1976) Докл. АН СССР, 231, 1006—1009; Gursky G. V., Tumanyan V. G., Zasedatelev A. S., Zhuze A. L., Grokhovsky S. L., Gottikh V. P. (1977) in Nucleic Acid-Protein Recognition (Vogel H. J., ed.), pp. 189—217, Acad. Press, N. Y.
3. Zimmer Ch., Reinert K.-E., Luck G., Wahnert U., Löber G., Thrum H. (1971) J. Mol. Biol., 58, 329—348.
4. Luck G., Tricbel H., Waring M., Zimmer Ch. (1974) Nucleic Acids Res., 1, 503—530.
5. Zimmer Ch. (1975) Progr. Nucleic Acids Res. and Mol. Biol., 15, 285—318.
6. Chandra P., Götz A., Wacker A., Zunino F., Di Marco A., Verini M. A., Casazza A. M., Fioretti A., Arcamone F., Ghione M. (1972) Hoppe-Seyler's Z. Physiol. Chem., 353, 393—398.
7. Гроховский С. Л., Жузе А. Л., Готтих В. П. (1975) Биоорганическая химия, 1, 1616—1623.
8. Waller C. W., Wolf C. F., Stein W. J., Hutchings B. L. (1957) J. Amer. Chem. Soc., 79, 1265—1266.
9. Крылов А. С., Гроховский С. Л., Заседателев А. С., Жузе А. Л., Гурский Г. В., Готтих В. П. (1978) Докл. АН СССР, 239, 732—735.
10. Синтезы органических препаратов (1949) 1, с. 357—364, Изд-во иностр. лит., М.
11. Staab H. A., Wendel K. (1960) Chem. Ber., 93, 2902—2915.
12. Синтезы органических препаратов (1953) 4, с. 46—48, Изд-во иностр. лит., М.
13. Penco S., Redaelli S., Arcamone F. (1967) Gazz. Chim. Ital., 97, 1110—1115.
14. Arcamone F., Nicoletta V., Penco S., Redaelli S. (1969) Gazz. Chim. Ital., 99, 623—640.
15. Синтезы органических препаратов (1953) 4, с. 345—346, Изд-во иностр. лит., М.
16. Anderson G. W., Callahan F. M. (1960) J. Amer. Chem. Soc., 82, 3359—3363.

Поступила в редакцию  
27.XII.1977

#### DNA BASE PAIR SPECIFIC LIGANDS. III. SYNTHESIS OF DANSYL ANALOGS OF DISTAMYCIN A

GROKHOVSKY S. L., ZHUZE A. L., GOTTIKH V. P.

*Institute of Molecular Biology,  
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

To test experimentally the validity of the previously proposed model for distamycin A-DNA complex, the following distamycin A analogs were synthesized: i) analogs with two N-methylpyrrol carboxamide units containing acetyl or benzoyl group instead of the formyl one, ii) analogs with different number of N-alkylpyrrol carboxamide units containing the dansyl-glycyl residue instead of the formyl group. In the course of acidolysis the decarboxylation of *tert*-butyl 1-methyl-4-acylamino-pyrrol-2-carboxylate was observed.