



УДК 547.875.7.04

СИНТЕЗ, ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ СВОЙСТВА И ИЗУЧЕНИЕ  
КИНЕТИКИ ПЕРЕГРУППИРОВКИ  
N<sup>1</sup>-ЗАМЕЩЕННЫХ ПРОИЗВОДНЫХ  
АДЕНОЗИН-3',5'-ЦИКЛОФОСФАТА

*Гуляев Н. Н., Туницкая В. Л., Мазурова Л. А.,  
Северин Е. С.*

*Московский государственный университет им. М. В. Ломоносова, кафедра биохимии*

Синтезирован ряд неизвестных ранее производных аденозин-3',5'-циклофосфата (сАМР) (I), содержащих заместители в положении N<sub>(1)</sub> пуринового основания молекулы. Некоторые из полученных соединений содержат в составе заместителей реакционноспособные группировки различной природы. Обнаружена аномальная легкость протекания перегруппировки Димрота для N<sup>1</sup>-(β-ампиноэтокси)-сАМР и 8-бром-N<sup>1</sup>-(β-аминоэтокси)-сАМР, обусловленная, по-видимому, внутримолекулярным катализом, осуществляемым алифатической аминогруппой бокового заместителя. Исследована кинетика перегруппировки Димрота для N<sup>1</sup>-(β-аминоэтокси)-сАМР, а также для некоторых других N<sup>1</sup>-замещенных производных сАМР.

Ранее нами был синтезирован ряд аналогов сАМР, модифицированных по различным положениям молекулы: по 2'-ОН- и экзо-NH<sub>2</sub>-группам [4], по положению C<sub>(8)</sub> гетероциклического основания и по циклофосфатной группировке [2, 3]. Большинство из полученных соединений содержали в модифицированных участках молекулы реакционноспособные группировки различной природы. Исследование взаимодействия таких аналогов сАМР с сАМР-связывающими ферментами — регуляторной субъединицей протенинкиназы, фосфодиэстеразой сАМР — позволило выявить некоторые закономерности структуры сАМР-связывающих центров этих ферментов [1, 2, 4].

В продолжение этих исследований мы считали целесообразным получить также аналоги сАМР, содержащие реакционноспособные группировки в составе заместителя в положении N<sub>(1)</sub> пуринового основания молекулы. Учитывая склонность N<sup>1</sup>-замещенных производных адениновых пуклеозидов к перегруппировке Димрота, интересно было изучить аналогичный процесс и для ряда синтезированных соединений.

Известны три метода модификации N<sub>(1)</sub> пуринового основания молекулы: ацилирование атома азота [5], его алкилирование [6], а также метод, заключающийся в предварительном получении N<sup>1</sup>-окси-сАМР [7] и его последующем алкилировании галогидными алкилами [6]. Для синтеза N<sup>1</sup>-замещенных производных сАМР мы применили последний способ, так как он обеспечивает получение в мягких условиях достаточно стабильных соединений, что существенно при синтезе аналогов, содержащих реакционноспособные группировки.

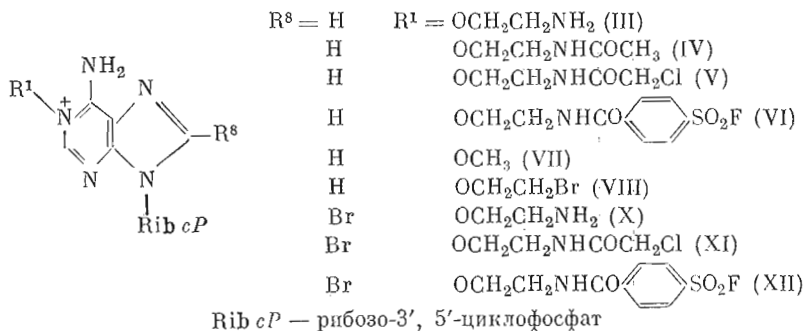
Ранее аналогичным способом [6] были получены N<sup>1</sup>-метокси-, N<sup>1</sup>-этокси- и N<sup>1</sup>-бензилоксипроизводные сАМР, однако до настоящего времени были неизвестны N<sup>1</sup>-замещенные производные сАМР, которые содержали бы в составе заместителя активные функциональные группы, способные к образованию ковалентных связей в соответствующих центрах сАМР-связывающих ферментов.

В работе, касающейся синтеза 8-замещенных производных сАМР [2], мы показали, что введение реакционноспособных группировок в молекулу нуклеотида можно осуществить при избирательном ацилировании алифатической аминогруппы в указанном положении *n*-нитрофениловыми эфирами соответствующих кислот. Аналогичный подход был использован нами и при синтезе N<sup>1</sup>-замещенных производных сАМР, содержащих реакционноспособные группировки: первоначальное алкилирование N<sup>1</sup>-оксида сАМР (II) β-бромэтиламиноом, приводящее к получению неизвестного ранее N<sup>1</sup>-(β-аминоэтокси)-сАМР (III), с последующим избирательным введением ацильного остатка по алифатической аминогруппе соединения (III).

Таким способом были получены не описанные ранее N<sup>1</sup>-(N'-ацетиламиноэтокси)-сАМР (IV), N<sup>1</sup>-(N'-хлорацетиламиноэтокси)-сАМР (V) и N<sup>1</sup>-[N'-(*n*-фторсульфонилбензоил)-аминоэтокси]-сАМР (VI). Кроме того, алкилированием N<sup>1</sup>-оксида сАМР иодистым метилом и бромистым этиленом были синтезированы соответственно N<sup>1</sup>-метокси-сАМР (VII) и неизвестный ранее N<sup>1</sup>-(β-бромэтокси)-сАМР (VIII).

Известно также, что N<sup>1</sup>-замещенные аналоги сАМР являются хорошими субстратами фосфодиэстеразы сАМР [8], а введение дополнительного заместителя в положение C<sub>(8)</sub> приводит к потере субстратных свойств соединения. Поэтому для получения более эффективных ингибиторов фосфодиэстеразы был осуществлен синтез аналогичной серии N<sup>1</sup>-замещенных производных сАМР, содержащих дополнительно атом брома в положении C<sub>(8)</sub>. Исходным веществом для получения таких соединений является 8-бром-N<sup>1</sup>-окси-сАМР (IX) [9]. Ниже приведены структурные формулы синтезированных соединений (схема 1).

Схема 1



Физико-химические свойства полученных аналогов сАМР представлены в табл. 1. В УФ-спектрах N<sup>1</sup>-замещенных производных наблюдался максимум поглощения при 257–259 нм, характерный для N<sup>1</sup>-замещенных производных адениновых нуклеотидов [6]. Для соединений, содержащих атом брома в положении C<sub>(8)</sub>, максимум поглощения смещался до 262–264 нм. Наличие амидной связи в ацильных производных (IV–VI, XI, XII) подтверждалось присутствием в их ИК-спектрах полосы поглощения при 1630–1650 см<sup>-1</sup>. В УФ-спектрах соединений (VI) и (XII), содержащих *n*-фторсульфонилбензоильную группировку, имеется дополнительный максимум поглощения при 238 нм, а в ИК-спектрах этих соединений — полоса поглощения при 1200 см<sup>-1</sup>, что характерно для ароматических сульфониалгалогенидов.

Таблица 1

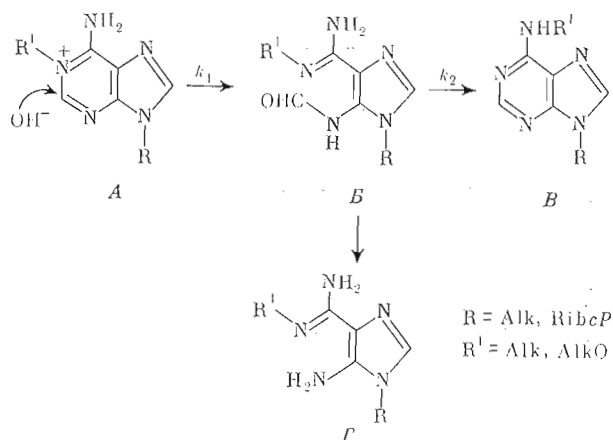
## Физико-химические свойства синтезированных соединений

Соединение	Брутто-формула	Анализ, %						R <sub>f</sub> (Б)	УФ-спектр		ИК-спектр, ν, см <sup>-1</sup>	Выход, %
		С		Н		Р			λ, нм	ε · 10 <sup>-3</sup>		
		найде- но	вычис- лено	найде- но	вычис- лено	найде- но	вычис- лено					
(III)	C <sub>12</sub> H <sub>18</sub> N <sub>8</sub> PO <sub>7</sub> · H <sub>2</sub> O	—	—	—	—	—	—	0,18	258	—	—	—
(IV)	C <sub>14</sub> H <sub>20</sub> N <sub>8</sub> PO <sub>8</sub> · H <sub>2</sub> O	37,46	37,42	5,04	4,94	6,78	6,89	0,26	258	13,5	1630 (C=O)	22,0
(V)	C <sub>14</sub> H <sub>19</sub> N <sub>8</sub> PO <sub>8</sub> Cl · H <sub>2</sub> O	34,75	34,76	4,43	4,38	6,17	6,40	0,43	258	13,8	1640 (C=O)	22,2
(VI)	C <sub>19</sub> H <sub>31</sub> N <sub>8</sub> PO <sub>10</sub> SF · H <sub>2</sub> O	38,72	38,44	3,94	3,91	4,87	5,22	0,71	258 238	13,8 21,4	1650 (C=O) 1200 (SO <sub>2</sub> F)	40,0
(VII)	C <sub>11</sub> H <sub>15</sub> N <sub>4</sub> PO <sub>7</sub> · H <sub>2</sub> O	35,25	35,00	4,09	4,27	8,01	8,21	0,43	257	14,7	—	46,6
(VIII)	C <sub>12</sub> H <sub>16</sub> N <sub>8</sub> PO <sub>7</sub> Br · H <sub>2</sub> O	31,00	30,60	4,06	3,85	6,51	6,57	0,53	262	13,4	—	37,0
(X)	C <sub>12</sub> H <sub>17</sub> N <sub>8</sub> PO <sub>7</sub> Br	—	—	—	—	—	—	0,28	263	—	—	—
(XI)	C <sub>14</sub> H <sub>18</sub> N <sub>8</sub> PO <sub>8</sub> ClBr · H <sub>2</sub> O	30,18	29,89	3,52	3,58	5,19	5,50	0,45	263	13,9	1640 (C=O)	34,0
(XII)	C <sub>19</sub> H <sub>30</sub> N <sub>8</sub> PO <sub>10</sub> SFBr · H <sub>2</sub> O	34,31	33,92	3,46	3,30	4,28	4,61	0,72	263 238	13,5 19,5	1650 (C=O) 1200 (SO <sub>2</sub> F)	18,0

Как указывалось выше, промежуточным продуктом в синтезе  $N^1$ -замещенных производных сАМР, содержащих реакционноспособные группировки, является  $N^1$ -( $\beta$ -аминоэтокси)-сАМР (III) и 8-бром- $N^1$ -( $\beta$ -аминоэтокси)-сАМР (X). Однако выделить и очистить эти вещества не представлялось возможным вследствие их крайней лабильности: в водных растворах, при хроматографии на бумаге, а также при непродолжительном хранении в присутствии следов влаги они разрушались с образованием новых продуктов, которые были нейтральны по данным электрофореза на бумаге (рН 4,5) в отличие от исходных соединений, имевших при этих условиях положительный заряд. Новые продукты сохраняли алифатическую аминогруппу, что было показано реакцией с нингдрином, отличались от исходных по хроматографической подвижности и УФ-спектрам. Продукт разложения соединения (III) имел  $\lambda_{\text{макс}}$  263 нм в отличие от исходного, имеющего  $\lambda_{\text{макс}}$  258 нм.

Известно, что  $N^1$ -алкил- и  $N$ -алкоксипроизводные адениновых нуклеозидов в щелочных условиях подвергаются перегруппировке Димрота [10–12] с образованием  $N^6$ -алкил-(алкокси)-замещенных нуклеозидов (схема 2).

Схема 2



Можно предположить, что лабильность  $N^1$ -( $\beta$ -аминоэтокси)-сАМР связана с повышенной легкостью протекания такой перегруппировки. Для выяснения этого вопроса, а также с целью изучения устойчивости синтезированных соединений мы исследовали кинетику перегруппировки Димрота для некоторых из полученных аналогов сАМР, используя методы тонкослойной хроматографии и электрофореза на бумаге.

Ранее Макон и Вольфенден [11] подробно исследовали кинетику перегруппировки Димрота для  $N^1$ -метиладенозина. Авторы показали, что промежуточный продукт  $B$  (схема 2) не накапливается в реакционной смеси, т. е.  $k_2 \gg k_1$ . При изучении перегруппировки  $N^1$ -метокси-сАМР (VII) мы, напротив, наблюдали значительное образование промежуточного продукта. Если перегруппировка проводилась при температуре ниже  $50^\circ$ , вторая стадия реакции ( $B \rightarrow B'$ ) вообще не протекала, причем продуктом реакции являлось соединение  $B$  (табл. 2). При повышении температуры образовывался конечный продукт  $B'$ , однако разница в скоростях стадий  $A \rightarrow B$  и  $B \rightarrow B'$  сохранялась столь значительной, что можно было с достаточной точностью определить отдельно константы  $k_1$  и  $k_2$ . При определении  $k_2$  за начало отсчета принимали время  $t$ , когда в смеси не обнаруживалось заметных количеств как исходного соединения  $A$ , так и конечного продукта  $B'$ . УФ-спектры и спектры КД  $N^1$ -метокси-сАМР (VII) и продуктов его перегруппировки представлены на рис. 1. В УФ-спектре наблюдается

Кинетика перегруппировки Димрота для N<sup>1</sup>-алкоксипроизводных сАМР

Соединение	N <sup>1</sup> -метоксн-сАМР			N <sup>1</sup> -(β-аминоэтоксн)-сАМР			N <sup>1</sup> -(N'-ацетиламиноэтоксн)-сАМР		
	Стадия	t <sub>1/2</sub>	К <sub>каж</sub> ·10 <sup>3</sup> , мин <sup>-1</sup>	Стадия	t <sub>1/2</sub> , мин	К <sub>каж</sub> ·10 <sup>2</sup> , мин <sup>-1</sup>	Стадия	t <sub>1/2</sub>	К <sub>каж</sub> ·10 <sup>3</sup> , мин <sup>-1</sup>
pH 6	20°	A → B	>100 ч	A → B → B	33,3	2,05	A → B	>100 ч	—
	50°	A → B	>100 ч	A → B → B	3,25	21,3	A → B → B	19,8 ч	0,58
	80°	A → B	>100 ч	A → B → B	1,80	38,6	A → B → B	7,16 ч	1,62
pH 8	20°	A → B	47 ч	A → B → B	5,50	12,6	A → B	72,0 ч	0,162
	50°	A → B	7,5 ч	A → B → B	2,35	29,5	A → B	6,72 ч	1,72
	80°	B → B	83 ч	A → B → B	1,50	46,3	A → B	7,0 мин	100
pH 11	20°	A → B	15,7 ч	A → B → B	0,74	—	A → B	8,95 ч	1,29
	50°	A → B	25,8 мин	A → B → B	27	—	A → B	30,0 мин	23
	80°	B → B	67,9 ч	A → B → B	0,17	—	A → B	3,0 мин	230
		A → B	3,14 мин	A → B → B	221	—			
		B → B	7,5 ч		4,0				

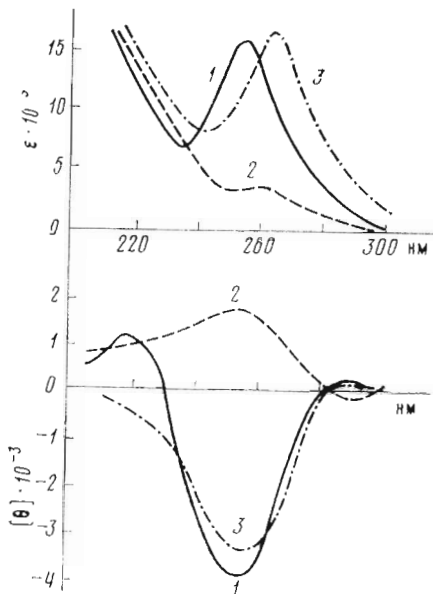


Рис. 1

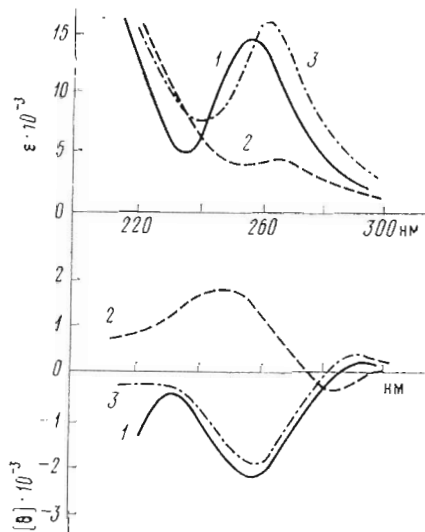


Рис. 2

Рис. 1. УФ-спектры и спектры КД соединения VII (1) и продуктов его перегруппировки: B - N-метокси-5-формамидо-1-(β-D-рибофуранозил)-имидазол - 4 - карбоксимидин-3',5'-циклофосфата (2) и B - N<sup>6</sup>-метоксисAMP (3)

Рис. 2. УФ-спектры и спектры КД соединения IV (1) и продуктов его перегруппировки: B - N-(N'-ацетиламиноэтокси)-5-формамидо-1-(β-D-рибофуранозил)-имидазол - 4-карбоксимидин-3',5'-циклофосфата (2) и B - N<sup>6</sup>-(N'-ацетиламиноэтокси)-сAMP (3)

Рис. 3. УФ-спектры и спектры КД соединения III (1) и продукта его перегруппировки B - N<sup>6</sup>-(β-аминоэтокси)-сAMP (2)

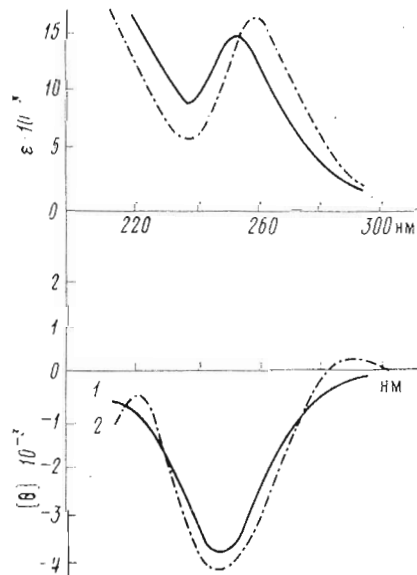


Рис. 3

вначале уменьшение максимума поглощения при 257 нм при переходе от A к B, а затем появление нового максимума поглощения при 267 нм, характерного для N<sup>6</sup>-метоксисAMP (B). Спектры КД N<sup>1</sup>-метоксисAMP и N<sup>6</sup>-метоксисAMP аналогичны по форме и подобны спектру сAMP [13], тогда как спектр интермедиата имеет положительную полосу КД в области 250–260 нм наряду с небольшим отрицательным эффектом при 280 нм.

Следует отметить также несколько большую устойчивость N<sup>1</sup>-метоксисAMP по сравнению с N<sup>1</sup>-метиладенозином [14], которая может быть, по-видимому, объяснена донорным эффектом электронной пары на атоме кислорода при N<sub>(1)</sub>, способствующим стабилизации гетероцикла.

Аналогично при помощи тонкослойной хроматографии, спектров поглощения и КД изучалась перегруппировка  $N^1$ -( $N'$ -ацетиламиноэтоксид)-сАМР. Это соединение, алифатическая аминогруппа которого защищена ацильным остатком, было лишь несколько более лабильно, чем  $N^1$ -метокси-сАМР (табл. 2). Следует, однако, отметить, что при  $pH \geq 8$  мы наблюдали для этого соединения только образование соединения  $B$ , но не образование  $N^6$ -замещенного продукта. Возможно, в данном случае несколько легче, чем для  $N^1$ -метокси-сАМР, протекает реакция деформилирования (стадия  $B \rightarrow G$ ) [12]. УФ-спектры и спектры КД  $N^1$ -( $N'$ -ацетиламиноэтоксид)-сАМР и продуктов его перегруппировки представлены на рис. 2. В них наблюдаются такие же закономерности, что и в случае  $N^1$ -метокси-сАМР.

Продукт разложения  $N^1$ -( $\beta$ -аминоэтоксид)-сАМР был, как уже отмечалось выше, нейтрален по данным электрофореза на бумаге ( $pH$  4,5), содержал алифатическую аминогруппу, в его УФ-спектре присутствовал максимум поглощения при 263 нм. Спектр КД этого соединения имел форму, характерную для  $N^6$ -замещенных производных сАМР, отрицательную полосу КД в области 255–260 нм наряду с небольшим положительным эффектом при 280 нм (рис. 3).

Спектры ЯМР  $N^1$ -замещенных производных сАМР, промежуточных продуктов перегруппировки Димрота и конечных продуктов ( $N^6$ -алкокси-производных сАМР) приведены на рис. 4. Можно отметить, что введение алкоксизаместителя в положение  $N_{(1)}$  пуринового ядра вызывает сдвиг сигналов обоих ядерных протонов ( $C_{(2)}H$  и  $C_{(8)}H$ ) (рис. 4б, в) в область более высоких частот, причем наибольший сдвиг наблюдается для  $C_{(2)}H$ . В то же время химический сдвиг ядерных протонов в соединениях, замещенных по экзоциклической аминогруппе (рис. 4е–з), и в соединениях непуринной структуры  $B$  (рис. 4г, д) меньше отличается от сдвига сигналов соответствующих протонов в спектре сАМР (рис. 4а). Сигналы протонов аминогруппы при наличии заместителя в положении  $N_{(1)}$  также сильно сдвинуты в область более высоких частот.

Итак, на основании сравнения приведенных характеристик неизвестного вещества, являющегося продуктом разложения  $N^1$ -( $\beta$ -аминоэтоксид)-сАМР, и характеристик исследованных соединений можно предположить, что данное вещество соответствует структуре  $N^6$ -( $\beta$ -аминоэтоксид)-сАМР — конечному продукту перегруппировки Димрота, которая в этом случае протекает с аномальной легкостью. При исследовании кинетики перегруппировки с помощью электрофореза на бумаге, тонкослойной хроматографии и анализа УФ-спектров не было обнаружено заметных количеств промежуточного продукта  $B$  в смеси. Однако при  $pH \geq 8$  в УФ-спектрах вначале наблюдалось некоторое уменьшение поглощения в области 258–263 нм и последующее его увеличение, что указывает на присутствие в смеси соединения  $B$  в незначительном количестве, т. е. в данном случае  $k_1 \approx k_2$ . Из табл. 2 видно, что скорость перегруппировки Димрота для  $N^1$ -( $\beta$ -аминоэтоксид)-сАМР превышает скорость для  $N^1$ -метокси-сАМР примерно в  $10^3$ – $10^4$  раз. Подобное увеличение скорости реакции, по всей вероятности, может быть отнесено за счет внутримолекулярного катализа, осуществляемого алифатической аминогруппой в составе заместителя, поскольку  $N^1$ -( $N'$ -ацетиламиноэтоксид)-сАМР, в котором данная аминогруппа защищена ацильным остатком, не проявляет аномальной лабильности. По-видимому, указанная аминогруппа облегчает нуклеофильную атаку гидроксильного иона на атом  $C_{(2)}$  при протекании перегруппировки Димрота. Поэтому в данном случае для протекания перегруппировки не требуется такого избытка  $OH^-$ -ионов в среде, которое необходимо при обычных условиях реакции Димрота.

Таким образом, осуществлен синтез ряда неизвестных ранее  $N^1$ -замещенных производных сАМР, большинство из которых содержат в составе заместителя реакционноспособные группировки. Обнаружена аномальная

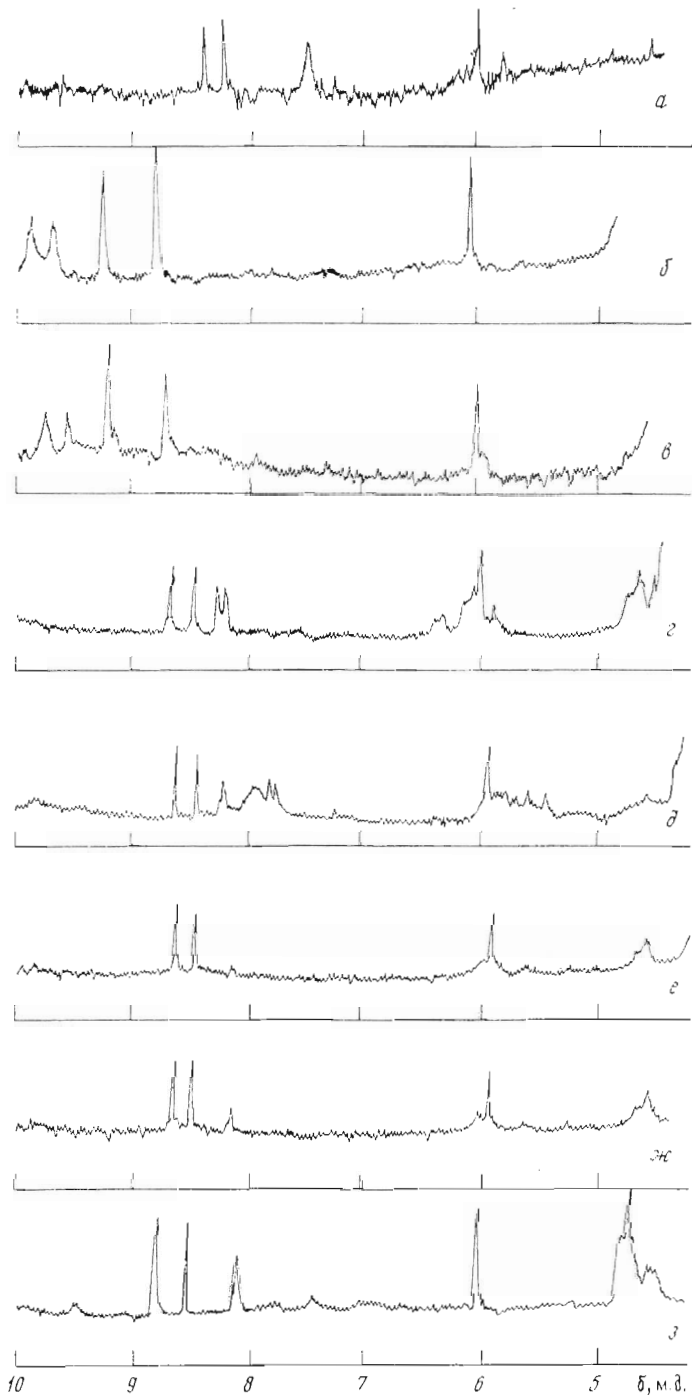


Рис. 4. Спектры ЯМР  $N^1$ -замещенных производных cAMP и продуктов их перегруппировки: cAMP (а),  $N^1$ -метокси-cAMP (б),  $N^1$ -( $N'$ -ацетил-аминоэтокси)-cAMP (в),  $N^1$ -метокси-5-формаидо-1-( $\beta$ -D-рибофуранозил)-имидазол-4-карбонсמידин-3',5'-циклофосфата (г),  $N^1$ -( $N'$ -ацетил-аминоэтокси)-5-формаидо-1-( $\beta$ -D-рибофуранозил)-имидазол-4-карбонсמידин-3',5'-циклофосфата (д),  $N^6$ -метокси-cAMP (е),  $N^6$ -( $N'$ -ацетил-аминоэтокси)-cAMP (ж) и  $N^6$ -( $\beta$ -аминоэтокси)-cAMP (з)



легкость протекания перегруппировки Димрота для  $N^1$ -( $\beta$ -аминоэтокси)-сАМР, обусловленная наличием алифатической аминогруппы в составе заместителя.

Исследование взаимодействия полученных соединений с сАМР-зависимыми ферментами составит предмет отдельного сообщения.

### Экспериментальная часть

В работе использовали сАМР (Reanal, Венгрия), дибромэтан и иодистый метил (Merck, ФРГ).

$\beta$ -Бромэтиламин был синтезирован из  $\beta$ -оксиптиламина нагреванием с бромистоводородной кислотой по методу [14]. *n*-Нитрофениловые эфиры уксусной, монохлоруксусной и *n*-фторсульфонилбензойной [15] кислот были получены конденсацией соответствующих кислот с *n*-нитрофенолом в присутствии дициклогексилкарбодиимида аналогично методу [16]. Моноадфталевую кислоту для синтеза  $N^1$ -окси-сАМР получали окислением фталевого ангидрида в щелочной среде [17]. В свою очередь,  $N^1$ -окси-сАМР был синтезирован по методу, предложенному Фалбрайдом и сотр. [7], а 8-бром- $N^1$ -окси-сАМР — по методу [9].

Тонкослойную хроматографию проводили на пластинках Silufol UV-254 (Chemapol, СССР) в системах *n*-бутанол — уксусная кислота — вода, 5:2:3 (А) и этанол — 0,5 М ацетат аммония, 5:2 (Б). Электрофорез осуществляли на установке высоковольтного горизонтального электрофореза ВЭФА-5-0,35 на бумаге Whatman № 1 при градиенте напряжения 50 В/см с использованием системы 0,05 М уксусная кислота — 0,05 М ацетат аммония, рН 4,5 (В). УФ-спектры снимали на спектрофотометре Hitachi 20-200 (Япония), ИК-спектры — на спектрометре UR-10 (ГДР) в виде пасты с вазелиновым маслом. Спектры КД снимали на дихрографе Mark III (Jobin Ivon, Франция). Для регистрации спектров использовали растворы с концентрацией  $\sim 10^{-4}$  М.

Спектры ЯМР снимали на спектрометре XL-15-A (Varian, США). Образцы (в концентрации  $\sim 1,5 \cdot 10^{-2}$  М) растворяли в диметилсульфоксиде ( $d_6$ -DMSO).

*Синтез  $N^1$ -замещенных производных сАМР.  $N^1$ -Метокси-сАМР (VII).* 35 мг (0,1 ммоль)  $N^1$ -окси-сАМР растворяли в 0,25 мл диметилсульфоксида. К полученной смеси добавляли 0,02 мл (0,317 ммоль) иодистого метила. Через 30 мин вещество осаждали добавлением 1 мл этанола и 20 мл эфира. Выпавший осадок отделяли и высушивали в вакууме. Продукт очищали колоночной хроматографией на даэксе  $1 \times 8$  в СГ-форме ( $1,5 \times 10$  см). Элюцию проводили водой. Фракции, содержащие вещество, упаривали досуха, остаток растирали со смесью этанол — эфир (1:10). Выход 15,3 мг (46,6%).

*$N^1$ -( $\beta$ -бромэтокси)-сАМР (VIII).* К раствору 35 мг (0,1 ммоль)  $N^1$ -окси-сАМР в 0,25 мл диметилсульфоксида добавляли 0,172 мл (2 ммоль) дибромэтана. Через сутки вещество осаждали добавлением 1 мл этанола, затем 20 мл эфира. Выпавший осадок отделяли и высушивали в вакууме. Выход 20 мг (37%).

*$N^1$ -( $\beta$ -аминоэтокси)-сАМР (III).* К раствору 72 мг (0,2 ммоль)  $N^1$ -окси-сАМР в 0,5 мл диметилсульфоксида добавляли 130 мг (0,64 ммоль)  $\beta$ -бромэтиламина. Через сутки вещество осаждали добавлением 2 мл этанола и 20 мл эфира, осадок отделяли и высушивали в вакууме. Полученное вещество без дальнейшей очистки использовали в синтезе ацильных производных.

*8-Бром- $N^1$ -( $\beta$ -аминоэтокси)-сАМР (X).* Получали из 82 мг (0,2 ммоль) 8-бром- $N^1$ -окси-сАМР и 130 мг (0,64 ммоль)  $\beta$ -бромэтиламина аналогично соединению (III). Вещество без очистки использовали для получения ацильных производных.

*$N^1$ -Ацильные производные  $N^1$ -( $\beta$ -аминоэтокси)-сАМР (III) и 8-бром-*

$N^1$ -( $\beta$ -аминоэтоксид)-сАМР (X). К суспензии 0,27 ммоль соединения (III) или (X) в 4 мл диметилформамида, содержащего 0,2 мл триэтиламина, добавляли 0,425 ммоль *n*-нитрофенилового эфира соответствующей кислоты (уксусной, монохлоруксусной или *n*-фторсульфонилбензойной). Через 30–60 мин раствор упаривали досуха, остаток растирали со смесью этанол–эфир (1 : 10), отделяли и высушивали в вакууме. Продукты очищали колоночной хроматографией на даэксе 1×8 в Cl<sup>-</sup>форме (1,5××15 см). Вещества элюировали с колонки водой. Фракции, содержащие продукт, упаривали досуха, остаток растирали со смесью этанол–эфир, осадок отфильтровывали и высушивали в вакууме. Выход 22–40% (см. табл. 1).

*Изучение кинетики перегруппировки  $N^1$ -замещенных производных сАМР.* В работе использовали следующие буферные растворы: рН 6–8, 0,2 М фосфат натрия; рН 11, 0,01 М NaOH.

$N^1$ -Метокси-сАМР (VII). 3,7 мг соединения (VII) растворяли в 1 мл соответствующего буфера и выдерживали при температуре 20, 50 и 80°. Через определенные промежутки времени из растворов отбирали по 10 мкл и наносили на пластинку Silufol UV-254. Параллельно с этим по 10 мкл растворов вносили в кювету с 3 мл воды и снимали УФ-спектры. Хроматографическое разделение проводили в системе А. Пятна, соответствующие исходному веществу ( $R_f$  0,23) и продуктам перегруппировки ( $R_f$  0,29 (B),  $R_f$  0,44 (B)), обнаруживали по поглощению в УФ-свете, вырезали, вещество элюировали 3 мл воды и спектрофотометрически определяли количество вещества в пробе, используя соответствующий коэффициент молярной экстинкции. Строили график зависимости (в полулогарифмических координатах) степени превращения соединения от времени, из которого определяли время полупревращения соединения ( $t_{1/2}$ ) и константу скорости реакции первого порядка ( $k_{\text{св}}$ ).

$N^1$ -( $N'$ -ацетиламиноэтоксид)-сАМР (IV). Изучение кинетики перегруппировки проводили методом, описанным для соединения (VII). Тонкослойную хроматографию осуществляли в системе Б ( $R_f$  0,29 (A),  $R_f$  0,39 (B),  $R_f$  0,60 (B)).

$N^1$ -( $\beta$ -Аминоэтоксид)-сАМР (III). Кинетика перегруппировки изучалась тем же способом, что и в случае соединения (VII). Вместо разделения веществ с помощью тонкослойной хроматографии использовали электрофорез на бумаге при рН 4,5, так как  $N^1$ -( $\beta$ -аминоэтоксид)-сАМР имеет положительный заряд, а  $N^6$ -( $\beta$ -аминоэтоксид)-сАМР в этих условиях нейтрален.

#### ЛИТЕРАТУРА.

1. Severin E. S., Nesterova M. V., Sashchenko L. P., Rasumova V. V., Tunitskaya V. L., Kochetkov S. N., Gulyaev N. N. (1975) *Biochim. et biophys. acta*, 384, 413–422.
2. Гуляев Н. Н., Туницкая В. Л., Нестерова М. В., Мазурова Л. А., Мургузас И. М., Северин Е. С. (1977) *Биохимия*, 42, 2071–2078.
3. Гуляев Н. Н., Баранова Л. А., Северин Е. С. (1976) *Бюл. изобр.* № 6. Авт. свид. № 502887 от 20.12.74 г.
4. Северин Е. С., Ткачук В. А., Гуляев Н. Н. (1976) *Биохимия*, 41, 384–388.
5. Brain D. M., Todd A., Varadarajan S. (1956) *J. Chem. Soc.*, 2384–2389.
6. Meyer R. B., Shuman D. A., Robins R. K., Miller J. P., Simon L. N. (1973) *J. Med. Chem.*, 16, 1319–1323.
7. Falbriard J. G., Posternak Th., Sutherland E. W. (1967) *Biochim. et biophys. acta*, 148, 99–105.
8. Васильев В. Ю., Гуляев Н. Н., Северин Е. С. (1975) *Ж. Всес. хим. о-ва им. Д. И. Менделеева*, 20, 306–322.
9. Uno H., Meyer R. B., Shuman D. A., Robins R. K., Simon L. N., Miller J. P. (1976) *J. Med. Chem.*, 19, 419–422.
10. Dimroth O. (1910) *Ann.*, 373, 336–370.
11. Mason J. B., Wolfenden R. (1968) *Biochemistry*, 7, 3453–3458.
12. Fujii T., Ytaya T., Wu C. C., Tanaka F. (1971) *Tetrahedron*, 27, 2415–2423.
13. Туницкая В. Л., Гуляев Н. Н., Полетаев А. И., Северин Е. С. (1977) *Биохимия*, 42, 746–753.
14. Cortese F. (1936) *J. Amer. Chem. Soc.*, 58, 191–192.

15. Steinkopf W. (1927) J. Pract. Chem., **117**, 1-82.
16. Rammler D. H., Khorana H. G. (1963) J. Amer. Chem. Soc., **85**, 1997-2002.
17. Böhme H. (1937) Chem. Ber., **70**, 382-383.

Поступила в редакцию  
19.IX.1978

**SYNTHESIS, PHYSICO-CHEMICAL PROPERTIES  
AND KINETICS OF THE REARRANGEMENT OF N<sup>1</sup>-SUBSTITUTED  
ADENOSINE 3', 5'-CYCLOPHOSPHATE DERIVATIVES**

GULYAEV N. N., TUNITSKAYA V. L., MASUROVA L. A.,  
SEVERIN E. S.

*Biology Department, M. V. Lomonosov State University, Moscow*

A number of previously unknown derivatives of adenosine 3',5'-cyclophosphate (cAMP) containing substituents at the N<sub>(1)</sub> position of the purine base have been synthesized. Some of these compounds bear the reactive groups of different nature. The anomalous feasibility of the Dimroth rearrangement was observed for N<sup>1</sup>-(β-aminoethoxy)-cAMP and 8-bromo-N<sup>1</sup>-(β-aminoethoxy)-cAMP and rationalized in terms of probable intramolecular catalysis mediated by the aliphatic amino group of the substituent. The kinetics of the Dimroth rearrangement for N<sup>1</sup>-(β-aminoethoxy)-cAMP and for some other N<sup>1</sup>-substituted cAMP derivatives were studied.

---