



УДК 547.963.32.07

СИНТЕЗ И ИЗУЧЕНИЕ НУКЛЕОЗИДОВ, РОДСТВЕННЫХ
АНТИБИОТИКУ ТУБЕРЦИДИНУ

Эктова Л. В., Толкачев В. Н., Радюкина И. Л.,
Иванова Т. П., Добрынин Я. В., Преображенская М. П.

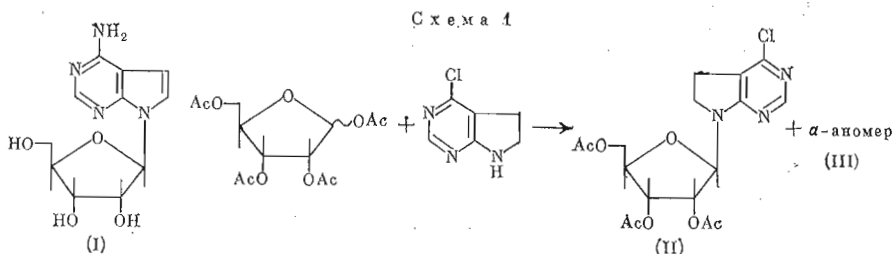
Онкологический научный центр
Академии медицинских наук СССР, Москва

Получен α -аномер нуклеозида — антибиотика туберцидина аммолизом ранее описанного 4-хлор-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- α -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидина. Синтезированы 7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин и его 5,6-дигидроаналог, а также 4-метилмеркапто-5,6-дигидро-7-(β -D-рибофуранозил)-пирроло[2,3-d]пиримидин. Получен аналог туберцидинового нуклеозида — 4-метилмеркапто-8-(β -D-рибофуранозил)пиперидино[2,3-d]пиримидин. При рибозилировании 4-окси-5,6-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидина сильным методом выделены ацетилированные N7- и N1-рибофуранозиды этого гетероцикла, а также O-ацетилированный N3-рибофуранозид 7-ацетил-4-оксо-3,4,5,6-тетрагидро-3H,7H-пирроло[2,3-d]пиримидина. Сопоставлено влияние туберцидина, его α -аномера и других соединений этого ряда на способность ингибировать *in vitro* рост культуры клеток рака яичника. Показано, что у α -аномера сохраняется высокая цитостатическая активность, дигидропроизводные лишены активности, а пиперидинопиримидиновый гликозид обладает достаточно высокой активностью.

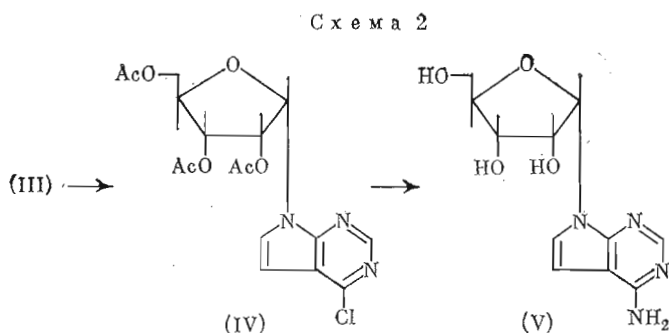
Противоопухолевый антибиотик туберцидин — 4-амино-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (I) обладает ценными биологическими свойствами. Однако возможность его медицинского применения ограничивается высокой токсичностью. Для выявления зависимости между структурой и действием представляет интерес синтез аналогов и производных туберцидина. Ранее мы описали синтез туберцидина, исходя из 4-хлор-5,6-дигидро-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидина [1].

В настоящей работе мы описываем синтез α -аномера туберцидина, а также синтез 5,6-дигидропирроло[2,3-d]пиримидиновых нуклеозидов и изучение влияния насыщения пиррольного кольца на некоторые биологические свойства соединений этого ряда. Ранее было показано, что 2,4-диоксо-8-(β -D-рибофуранозил)пиридо[2,3-d]пиримидин обладает противоопухолевой активностью [2]. В связи с этим нами синтезирован аналог туберцидиновых нуклеозидов, содержащий вместо пятичленного пиррольного шестичленное кольцо, и изучена его способность подавлять синтез ДНК *in vitro*.

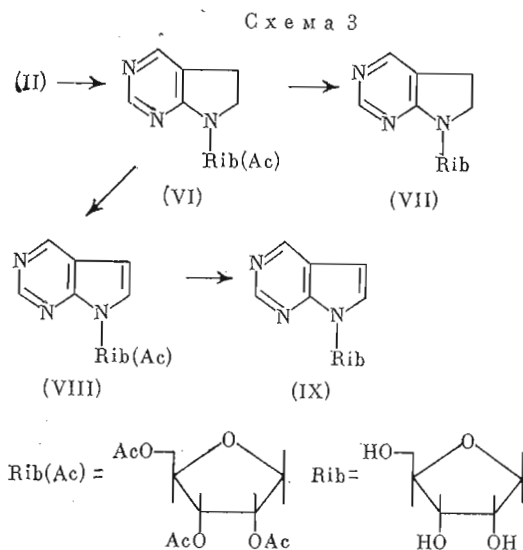
В основе синтеза антибиотика туберцидина, разработанного нами, лежит реакция гликозилирования 4-хлор-5,6-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидина сплавлением с тетраацетилрибофуранозой в присутствии иода (схема 1). Наряду с 4-хлор-5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидином (II) (51%) в этой реакции образуется его α -рибофуранозид (III) (5%), который мы использовали для получения ранее не описанного α -аномера туберцидина. Соединение (III)



при дегидрировании γ -MnO₂ [3] превращено в 4-хлор-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- α -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (IV), обработка которого раствором аммиака в метаноле при 150°С в течение 3 ч привела к 4-амино-7-(α -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидину (V), являющемуся α -аномером антибиотика туберцидина (I) (схема 2).



α -Конфигурация соединения (IV) была доказана нами ранее [1]. В спектре ПМР α -туберцидина (V) (табл. 1) по сравнению с β -аномером [1] наблюдается характерное смещение сигнала 1'-H-протона в слабое поле на 0,44 м.д. Обычно константы спин-спинового взаимодействия аномерных протонов для β -рибозидов меньше, чем у соответствующих α -рибозидов. Однако величина $J_{1',2'}$ у α -туберцидина меньше, чем у туберцидина, на 2,0 Гц. Аналогичное соотношение констант наблюдается у N1 α - и β -D-рибофуранозидов бевзимидазола [4].



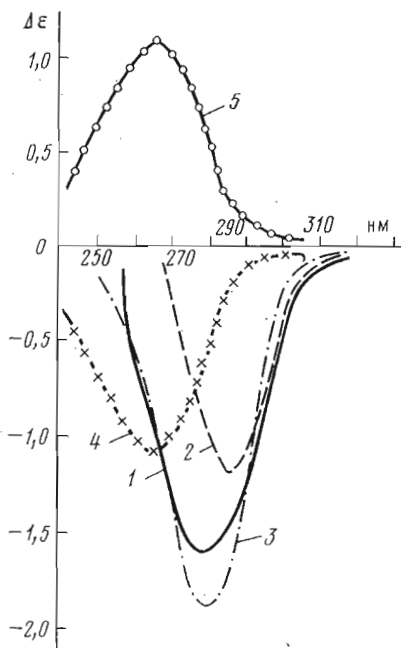
Данные спектров ПМР синтезированных рибозидов

Соединение	Химические сдвиги, δ , м. д.												J, Гц				Растворитель
	OAc	2-Н	5-Н	6-Н	4-R	1'-Н	2'-Н	3'-Н	4'-Н	5'-Н	5''-Н	J, Гц					
												J _{5,6}	J _{1',2'}	J _{2',3'}	J _{3',4'}		
(V)		8,04	6,51	7,44	6,91	6,44	3,95-4,37						4,4				DMSO-d ₆
(VI)	2,08; 2,12; 2,14	8,48	3,07	3,75	8,06	6,09	5,46	5,26		4,25			7,2	6,0		3,5	CDCl ₃
(VII)		8,27	3,06	3,62-4,00	7,91	5,74	4,31	4,08	3,62-4,00				6,2	5,6		3,4	CD ₃ OD
(VIII)	2,02; 2,11; 2,15	8,92	6,62	7,41	8,92	6,52	5,79	5,57		4,38			6,0	5,6		3,6	CDCl ₃
(IX)		8,91	6,65	7,74	8,71	6,24	4,62	4,30	4,11		3,78		6,2	5,4		3,4	CD ₃ OD
(XIII)	2,05; 2,11 ^a	8,39	2,91	3,74	2,57	6,07	5,47	5,31		4,24			7,0	5,4			CD ₃ OD
(XIV)		8,20	2,88	3,47-3,98	2,52	5,68	4,28	4,07	3,47-3,98				6,0	5,4		3,6	CDCl ₃
(XVIII) ^б	2,02; 2,08; 2,11	8,36	2,51	1,94	2,51	6,68	5,42	5,24		4,24			6,4	6,0		3,4	CDCl ₃
(XIX) ^в		8,28	2,36-2,60	1,80	2,36-2,60	6,37	3,76-4,08		3,20-3,76				5,6				DMSO-d ₆
(XX) ^г	2,10; 2,12; 2,15	8,26	2,89	4,08		6,10	5,51			4,40			3,2				CDCl ₃
(XXI) ^д	2,08; 2,12 ^a	8,00	2,94	3,68		6,04	5,52			4,37			3,2				CDCl ₃
(XXII)	2,07; 2,12 ^a	7,98	2,98	3,74		5,98	5,42	5,25		4,24			7,2	5,6			CDCl ₃

Химические сдвиги сигналов: а две группы сигналов; б 7-НН 3,40; в 7-НН 3,20-3,76; г N7-As 2,56; д N7-Н 5,05 м. д.

Кривая КД α -туберцидина в отличие от β -аномера имеет положительный знак эффекта Коттона (рис. 1).

β -Аномер (II) был использован для получения ряда аналогов нуклеозидов (схема 3). При его дегалоидировании над палладиевым катализатором получен 5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (VI) с выходом 76%. Деацетилирование последнего привело к 5,6-дигидро-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидину (VII).



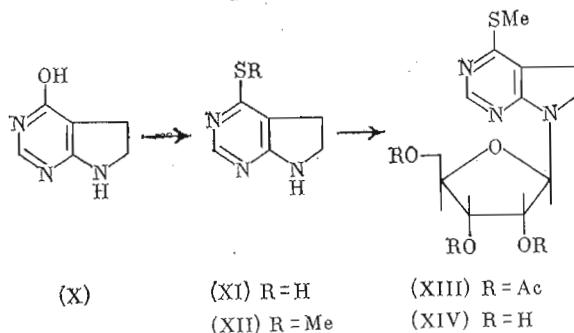
Кривые КД в спирте: 1 — 4-хлор-5,6-дигидро-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин; 2 — 4-метилмеркапто-5,6-дигидро-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин; 3 — 4-метилмеркапто-8-(β -D-рибофуранозил)пиперидино(2,3-d)пиримидин; 4 — 4-амино-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин; 5 — 4-амино-7-(α -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин

Дегидрирование соединения (VI) с помощью γ -MnO₂ при 20°С дает с выходом 50% ацетилованный рибозид пирроло[2,3-d]пиримидина (VIII). В спектре ПМР полученного соединения было отмечено исчезновение триплетов при 3,04 и 3,75 м.д., приписываемых 5 и 6 протонам пирролинового кольца, и появление дублетов при 6,62 и 7,41 м.д., характерных для протонов пиррола. При деацетилировании аналога (VIII) выделен 7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (IX), соответствующий по свойствам литературным данным [5]. Нуклеозид (IX) является 7-дезааналогом антибиотика небуларина. Соединениям (VI) — (IX) приписана β -конфигурация, поскольку исходным являлся β -рибозид (II) [1].

Для синтеза 4-метилмеркапто-5,6-дигидро-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидина (XIV) в качестве исходного был использован 4-метилмеркапто-5,6-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидин (XII) (см. схему 4), полученный из 4-окси-5,6-дигидро-7H-пирроло[2,3-d]пиримидина (X) [6] через стадии тионирования и S-метилирования. Гликозилирование основания (XII) осуществлено сплавлением с 1,2,3,5-тетра-О-ацетил-D-рибофуранозой в вакууме в присутствии каталитических количеств бис-(*n*-нитрофенил)фосфата. Методом ТСХ с выходом 15% выделен 4-метилмеркапто-5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (XIII). При деацетилировании соединения (XIII) получен 4-метилмеркапто-5,6-дигидро-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (XIV).

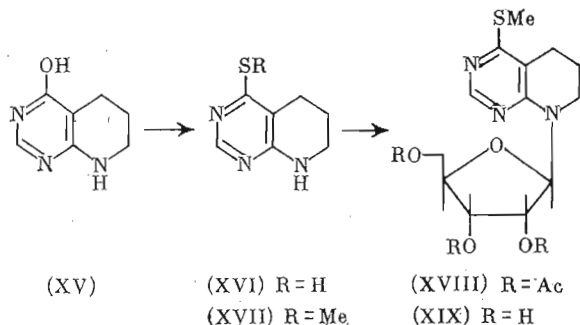
В качестве исходного соединения в синтезе аналога туберцидина — нуклеозида, содержащего вместо 5-членного пирролинового кольца азотистый шестичленник, был использован 4-метилмеркаптопиперидино[2,3-d]-

Схема 4



пиримидин (XVII), полученный последовательным тионированием и S-метилированием 4-оксиоперидино[2,3-*d*]пиримидина (XV) [7] (см. схему 5). При сплавлении в вакууме соединения (XVII) с тетраацетил-*D*-рибофуранозой в присутствии каталитических количеств *n*-толуолсульфокислоты после хроматографической очистки с выходом 49,5% был выделен 4-метилмерkapто-8-(2',3',5'-три-*O*-ацетил- β -*D*-рибофуранозил)пиперидино[2,3-*d*]пиримидин (XVIII). Его деацетилирование привело к 4-метилмерkapто-8-(β -*D*-рибофуранозил)пиперидино[2,3-*d*]пиримидину (XIX).

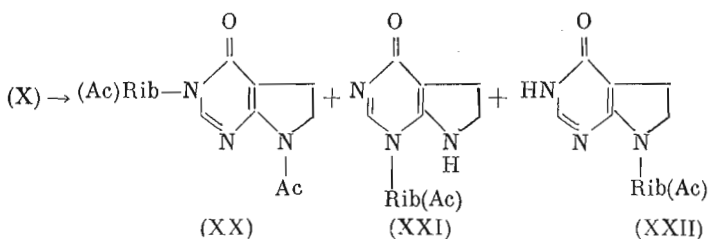
Схема 5



Положение остатка рибозы у атомов гетероцикла N7 в соединении (XIV) и N8 в соединении (XIX) было определено на основании сравнения их УФ-спектров со спектрами соответствующих исходных гетероциклических оснований (XII) и (XVII).

Подтверждение β -конфигурации синтезированных соединений было получено при сопоставлении спектров КД рибофуранозидов (XIV), (XIX) со спектром 4-хлор-5,6-дигидро-7-(β -*D*-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидина. В спектрах этих соединений характер кривой и положение максимумов очень близки, в области 288–295 нм наблюдается отрицательный эффект Коттона.

Схема 6



С целью получения дигидроаналога 7-дезазаинозина мы изучали гликозилирование 4-окси-5,6-дигидро-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидина (X). Гетероцикл (X) гликозилировать методом сплавления не удалось. Конденсация его триметилсилильного производного с 1,2,3,5-тетра-*O*-ацетил-*D*-рибофуранозой в дихлорэтаноле в присутствии каталитических количеств SnCl_4 привела к смеси трех гликозидов (XX) — (XXII), разделенных методом ТСХ (схема 6). Было показано, что повышение температуры и увеличение количества SnCl_4 приводит к увеличению выхода гликозида (XXII) и снижению выхода гликозида (XXI).

В ИК-спектрах соединений (XX) — (XXII) наблюдаются четкие полосы поглощения при 1750 и 1640 см^{-1} , соответствующие характеристическим колебаниям карбонильных групп фрагментов CH_3COO и CON соответственно. Наличие в спектрах всех трех соединений полосы поглощения при 1640 см^{-1} позволяет считать, что ни одно из выделенных соединений не является *O*-гликозидом. В ИК-спектре гликозида (XX) имеется также полоса поглощения при 1690 см^{-1} , которую можно отнести к колебаниям карбонильной группы соединений типа ацетанилида (для 7-ацетил-4-хлор-5,6-дигидропирроло[2,3-*d*]пиримидина $\nu_{\text{C=O}}$ 1690 см^{-1}). УФ-спектр гликозида (XXII) практически совпадает с УФ-спектром исходного гетероцикла, что позволяет считать N7-атом местом присоединения рибозного остатка.

В УФ-спектрах исходного гетероцикла (X) в кислой и щелочной средах по сравнению со спектром в нейтральной среде наблюдаются незначительные смещения длинноволнового максимума поглощения на 3 нм: в первом случае в длинноволновую, а во втором — в коротковолновую область. Изменение характера кривой спектра в щелочной среде, вероятно, результат солеобразования. Совпадение максимумов поглощения в кислой, щелочной и нейтральной средах для рибозида (XX) может свидетельствовать в пользу замещения по N3 и N7 одновременно. Для рибозида (XXII) в щелочной среде по сравнению с нейтральной, как и в случае исходного гетероцикла, наблюдается гипсохромный сдвиг на 2 нм и изменение формы кривой. Для рибозида (XXI) отмечен батохромный сдвиг на 2 нм в кислой среде по сравнению с нейтральной.

Параметры спектров ПМР гликозидов (XX) — (XXII) представлены в табл. 1. Все полученные гликозиды содержат сигналы триацетилрибозы и гетероцикла (X). В спектре ПМР гликозида (XX) помимо трех сигналов ацетильных групп имеется сигнал еще одной группы — CH_3CO , который может быть отнесен к группе $\text{CH}_3\text{CO-N7}$. В спектре ПМР этого гликозида по сравнению со спектрами соединений (XXI) и (XXII) наблюдается смещение сигнала C6-НН в слабое поле на 0,40 и 0,34 м.д., что может быть объяснено анизотропным эффектом $\text{CH}_3\text{CO-N7}$ -группы.

Для гликозида (XXII) отмечено высокое значение константы $J_{1',2'}$, что характерно для β -рибофуранозидов пуринов, индолов и индолинов, а для гликозидов (XX) и (XXI) значения констант $J_{1',2'}$ значительно меньше и лежат в области, более характерной для рибофуранозидов пиримидиновых гетероциклов (3,2 Гц). Можно полагать, что соединения (XX) — (XXII) имеют β -конфигурацию, так как при использовании силильного метода обычно образуются β -аномеры.

Таким образом, на основании данных ИК-, УФ- и ПМР-спектроскопии можно высказать предположение, что гликозид (XXII) является N7-рибозидом, а гликозиды (XX) и (XXI) — это производные пирролинопиримидина, гликозилированные по атомам азота пиримидиновой части молекулы, причем гликозид (XX) в положении N7 содержит ацетильную группу.

Для установления места присоединения рибозного остатка в соединениях (XX) — (XXII) было проведено сопоставление спектров ^{13}C -ЯМР этих соединений и спектра аниона гетероциклического основания. Известно, что в спектрах ^{13}C -ЯМР N-замещенных гетероциклов по сравнению с анионами соответствующих N-незамещенных гетероциклов наблюдается сильно-

Данные спектров ^{13}C -ЯМР 5,6-дигидропирроло [2,3-*d*] пиримидин-4-она и его нуклеозидов (в DMSO-d_6)

Соединения	Химические сдвиги, δ , м. д. ($\Delta\delta$ — смещение сигнала по сравнению с анионом (X))												
	C2	C4	C4a	C5	C6	C7a	C1'	C2'	C3'	C4'	C5'	COCH_3	COCH_2
(X)	148,44	166,61	94,27	22,16	41,34	156,60							
(X)*	154,18	167,41	95,20	23,46	41,21	167,41							
(XX)	149,18	156,90	104,73	22,45	44,25	156,14	87,86	70,74	67,72	77,33	60,83	168,04	18,81
	(+5,00)	(+10,51)	(-9,53)	(+1,01)	(-3,04)	(+11,27)						167,43	18,47
												167,35	18,28
												166,49	18,23
(XXI)	149,98	165,78	93,10	22,09	41,79	154,95	87,51	70,88	67,99	77,01	61,14	168,07	18,47
	(+4,20)	(+1,63)	(+2,10)	(+1,37)	(-0,58)	(+12,46)						167,48	18,30
												167,40	18,25
(XXII)	148,81	163,58	98,09	20,19	40,53	156,87	82,62	68,62	67,10	75,83	61,51	168,06	18,55
	(+5,37)	(+3,83)	(-2,89)	(+3,27)	(+0,68)	(+10,54)						167,58	18,42
												167,43	18,27

* Спектр записан в присутствии MeOLi .

польный сдвиг сигнала ядра атома углерода, соседнего с замещенным атомом азота (α -сдвиг), и слабополюный сдвиг сигнала ядра атома углерода, находящегося в β -положении к замещенному азоту (β -сдвиг) [8, 9]. Ранее для получения спектров анионов гетероциклов к раствору гетероцикла добавляли гидроксид лития; мы использовали для этой цели метилат лития, что значительно удобнее, поскольку он хорошо растворим в диметилсульфоксиде. В табл. 2 представлены параметры спектров ^{13}C -ЯМР гетероцикла (X), его аниона и гликозидов (XX)–(XXII). Сигналы атомов идентифицированы с использованием метода неполной развязки от протонов (off-resonance).

Отнесение сигналов ядер атомов углеводного цикла нуклеинового основания проведено по аналогии с данными, полученными для других нуклеозидов [10]. При выборе сигналов пятого и шестого атомов углерода наиболее слабополюный сигнал отнесен к ядру атома C6, соседнему с атомом азота, так же как это было сделано в спектрах ^{13}C -ЯМР соединений ряда туберцидина [10]. Однако сопоставление спектров ^{13}C -ЯМР пирроло[2,3-*d*]пиримидинов и соответствующих нуклеозидов показывает, что концепция α - β -сдвигов не соблюдается для сигналов ядер атомов углерода пиррольного цикла (C5 и C6) [10]. В связи с этим при отнесении структур мы воспользовались данными углеродного резонанса пиримидиновой части молекулы.

При переходе от аниона гетероцикла (X) к рибозиду (XXII) сигнал ядра атома C7a претерпевает α -сдвиг ($\Delta\delta +10,54$ м.д.), а сигнал C4a— β -сдвиг ($\Delta\delta -2,89$ м.д.). Это свидетельствует о положении рибозного остатка при N7-атоме. Для рибозидов (XXI) наибольшие сильнополюные сдвиги имеют сигналы ядер атомов C7a и C2 ($\Delta\delta +12,46$ и $+4,20$ м.д. соответственно), что говорит о положении рибозного остатка при N1-атоме.

Для рибозидов (XX) можно отметить α -сдвиг сигналов C4, C2 и C7a в сильное поле на 10,51; 5,00 и 11,27 м.д. соответственно, а для сигнала C4a— β -сдвиг в слабое поле на $-9,53$ м.д. Это согласуется с предположением, сделанным на основании ИК-, УФ- и ПМР-спектров об одновременном замещении у N7- и N3-атомов.

Данные табл. 2 показывают наличие в спектре N1-рибозидов (XXI) аномальных небольших сильнополюных сдвигов сигналов ядер атомов C4

и С4а, что может быть связано с иным распределением связей в этом соединении по сравнению с агликоном. В спектре N7-рибозида (XXII) достаточно большие сильнополюсные сдвиги сигналов ядер С4- и С2-атомов по сравнению с анионом, по-видимому, объясняются присутствием протона при N3-атоме. Аналогичные отклонения от системы α -, β -сдвигов наблюдались также у рибозидов конденсированных имидазолов [11].

Гликозиды (XX) — (XXII) были исследованы масс-спектрометрически. В результате получены масс-спектры низкого разрешения, в которых присутствуют пики молекулярных ионов (M^+ 437, 395, 395 соответственно). Диссоциативная ионизация этих соединений осуществляется практически по одним и тем же направлениям. В спектрах присутствуют пики, отвечающие распаду молекулы по гликозидной связи [m/e 136 и 259 для соединений (XXI) и (XXII) и m/e 178 и 259 для соединения (XX)], а также ряд пиков, возникающих при последовательном отщеплении от триацетилрибозы уксусной кислоты и кетена (m/e 157), воды (m/e 139) и кетена (m/e 97). Помимо указанных пиков в спектрах присутствуют пики, соответствующие разрыву С4'—С5'-связи, характерному для фуранозных производных, и пики, соответствующие фрагментам $(B+30)^+$, где B — остаток гетероциклического основания. Относительная интенсивность пиков молекулярных ионов (W_M) для рибозида (XXI) составляет 0,72%, а для рибозида (XXII) — 0,28%. Интенсивность пиков ионов $(M-B)^+$, соответствующих фрагменту рибозного остатка, также различна: для соединения (XXI) — 0,32%, а для соединения (XXII) — 3,99% от полного ионного тока. Суммарная интенсивность пиков ионов B^+ , $(B+1)^+$, $(B+2)^+$ для соединения (XXI) составляет 1,00%, а для соединения (XXII) — 8,21% от полного ионного тока. Полученные данные свидетельствуют о большей вероятности разрыва гликозидной связи в случае соединения (XXII). Известно, что значения W_M для соединений одного и того же класса возрастают с увеличением ароматичности [12]. Значение W_M для N3-рибозида (XX) составляет 0,96% и близко к значению W_M для N1-рибозида (XXI), где рибозный остаток также присоединен к пиримидиновому циклу. Таким образом, данные, полученные в результате масс-спектрометрического исследования, косвенно подтверждают структуры, установленные для соединений (XX) — (XXII) при использовании других методов.

Биологические испытания туберцидина, его α -аномера, 4-хлор-5,6-дигидро-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидина, 4-хлор-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидина и соединений (II), (V), (XIV) и (XIX) были проведены в системе *in vitro* на культуре клеток линии CaOv карциномы яичника человека. Об активности соединений судили по включению 3H -тимидина в ДНК клеток. Для изученных препаратов был опре-

Таблица 3

Цитостатический эффект синтезированных нуклеозидов в системе *in vitro* на культуре клеток линии CaOv

Соединения	СЭ ₅₀ , мкг/мл
Туберцидин (I)	~0,05
α -Туберцидин (V)	2±1
7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3- <i>d</i>]пиримидин (IX)	~0,3
4-Хлор-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3- <i>d</i>]пиримидин	8±3
5,6-Дигидро-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3- <i>d</i>]пиримидин (VII)	~500
4-Хлор-5,6-дигидро-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3- <i>d</i>]пиримидин	>1000
4-Метилтио-5,6-дигидро-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3- <i>d</i>]пиримидин (XIV)	~200
4-Метилтио-8-(β -D-рибофуранозил)пиперидино[2,3- <i>d</i>]пиримидин (XIX)	8±3

делен 50% клеточный эффект (CE_{50}) — концентрация, вызывающая ингибирование синтеза ДНК на 50% по сравнению с контролем. Полученные данные (с учетом 95% доверительного интервала) представлены в табл. 3.

Синтезированный нами туберцидин, как и следовало ожидать, обладает очень высокой цитотоксической активностью. Его аналоги — 7-дезазанебулярин (IX) и 4-хлор-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин также высокоактивны, хотя их активность значительно ниже, чем у туберцидина. Переход к дигидропроизводным приводит к полной потере активности *in vitro*. Нельзя, однако, исключить возможность того, что *in vivo* эти рибозиды могут быть дегидрированы и проявят биологическую активность. Интересно, что α -аномер туберцидина (V) сохраняет высокую активность. Особый интерес представляют также цитотоксические свойства пиперидинового аналога (XIX).

Экспериментальная часть

Спектры ПМР снимали на приборе Jeol JNM-MH-100 (Япония) при рабочей частоте 100 МГц, внутренний стандарт — тетраметилсилан; спектры ^{13}C -ЯМР — на приборе Bruker WH-360 (ФРГ) при рабочей частоте 90,55 МГц, внутренний стандарт — гексаметилдисилоксан; масс-спектры — на приборе Varian MAT-311A (США) при 70 эВ, кривые КД — на дихрографе Jobin Yvon Mark III (Франция). ИК-спектры записаны на спектрофотометре UR-10 в таблетках с KBr, УФ-спектры — на регистрирующем спектрофотометре Unicam SP-800 (Англия) в 96% спирте, удельное вращение определено на поляриметре Perkin-Elmer-241 (США). Препаративную хроматографию проводили в незакрепленном слое на пластинках (20×20 см) с силикагелем марки ЛСЛ₂₅₄ 5/4 μm (Chemapol, ЧССР) при толщине слоя 0,5 мм с нагрузкой не более 50 мг на пластинку.

4-Амино-7-(α -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (V). Раствор 100 мг 4-хлор-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- α -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидина (IV) в 20 мл безводного метанола, насыщенного при -10°C аммиаком, нагревали в автоклаве 3 ч при 150°C . Охлажденный раствор упаривали досуха, остаток растворяли в воде, наносили на колонку с дауэксом 1×4 (OH^-) и элюировали смесью вода — метанол (85 : 15), затем вода — метанол (40 : 60). Получали 20 мг (31%) соединения (V), т.пл. $126\text{--}128^\circ\text{C}$, $[\alpha]_D^{23} +15^\circ$ (с 0,5; 50% уксусная кислота). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ) при pH 1: 228(4,27), 272(3,93), при pH 11: 240(4,21), 270(3,87) (M^+ 266).

5,6-Дигидро-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (VI). К раствору 100 мг 4-хлор-5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидина (II) в 10 мл этилового спирта добавляли 60 мг 10% Pd/C и 100 мг бикарбоната натрия. Реакционную смесь перемешивали в автоклаве при 20°C и давлении водорода 40 атм в течение 16 ч. Осадок отфильтровывали и промывали этанолом, фильтрат упаривали. Полученный остаток хроматографировали в системе бензол — ацетон, 1 : 2. Из зоны с R_f 0,38—0,21 выделяли 69,6 мг (76%) вещества (VI), $[\alpha]_D^{23} +1,1$ (с 1; хлороформ). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ): 203 (3,93), 248(4,10), 283(3,81). Найдено, %: C 53,40; H 5,60; N 11,0. $\text{C}_{17}\text{H}_{21}\text{N}_3\text{O}_7$. Вычислено, %: C 53,56; H 5,58; N 11,08.

5,6-Дигидро-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (VII). К раствору 35 мг 5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидина (VI) в 1 мл безводного метанола добавляли 0,01 мл 0,1 н. раствора метилата натрия. Смесь перемешивали 0,5 ч при 20°C . Метанольный раствор нейтрализовали добавлением дауэкса 50 (H^+), смолу отфильтровывали, фильтрат упаривали в вакууме. Остаток хроматографировали в системе ацетон — бензол, 4 : 1. Из зоны с R_f 0,18—0,04 выделяли 14,1 мг (76,4%) рибозида (VII). $[\alpha]_D^{23} -53,6^\circ$ (с 1; метанол). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ): 201(3,83), 252(4,03), 287(3,71) (M^+ 253).

7-(2',3',5'-Три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)пирроло - [2,3-d]пирими-

дин (VIII). К раствору 140 мг 5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-О-ацетил-β-D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидина (VI) в 30 мл безводного бензола добавляли 2,8 г γ-MnO₂ и перемешивали при 20° С в течение 20 ч. Осадок отфильтровывали, промывали хлороформом, фильтрат упаривали. Остаток хроматографировали в системе бензол — ацетон, 1 : 2. Из зоны с R_f 0,53—0,69 выделяли 70 мг (50,5%) ацетата нуклеозиды (VIII), [α]_D²³ -2,5° (с 1; хлороформ). УФ-спектр, λ_{макс}, нм (lg ε): 221(4,25); 270(3,41). Найдено, %: С 56,35; Н 5,00; N 11,00. С₁₇H₁₉N₃O₇. Вычислено, %: С 56,75; Н 5,08; N 11,14.

7-(β-D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (IX). Деацетилювали 50 мг 7-(2',3',5'-три-О-ацетил-β-D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидина (VIII) 0,01 мл 0,1 н. раствора метилата натрия, как описано при получении соединения (VII). После хроматографирования полученного масла в системе ацетон — бензол (4 : 1) из зоны с R_f 0,40—0,10 выделяли 20 мг (60%) соединения (IX), [α]_D²³ -57,2° (с 1; метанол). УФ-спектр, λ_{макс}, нм (lg ε) 223(4,32), 270(3,55) (M⁺ 251).

4-Меркапто-5,6-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин (XI). К смеси 0,5 г 4-окси-5,6-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидина (X) и 1 г пятисернистого фосфора добавляли 40 мл безводного пиридина и кипятили 4,5 ч. Пиридин упаривали, к остатку добавляли 40 мл воды и кипятили 4 ч. Охлажденную до 20° С смесь нейтрализовали 5 % NaOH до pH 8, фильтровали, фильтрат нейтрализовали 1 н. HCl до pH 7 и охлаждали до 0° С. Выпавший осадок отделяли. Получали 0,48 г (85,6%) соединения (XI), т.пл. 229—230° С (из метанола). Найдено, %: S 21,05. С₆H₇N₃S. Вычислено, %: S 20,93.

4-Метилмеркапто-5,6-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидин (XII). К раствору метилата натрия (50 мг Na в 3 мл метилового спирта) добавляли 300 мг 4-меркапто-5,6-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидина (XI) и 0,2 мл иодистого метила. Смесь перемешивали при 20° С 30 мин, добавляли 3 мл воды, охлаждали до 0° С, выпавший осадок отфильтровывали, получали 190 мг (59,5%) соединения (XII), т.пл. 184—185° С (из метанола). УФ-спектр, λ_{макс}, нм (lg ε): 235 (4,17), 243 (4,25), 292 (3,56). Найдено, %: С 50,63; Н 5,05; N 25,56. С₇H₉N₃S. Вычислено, %: С 50,27; Н 5,43; N 25,13.

4-Метилмеркапто-5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-О-ацетил-β-D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (XIII). Измельченную смесь 136 мг 4-метилмеркапто-5,6-дигидро-7Н-пирроло[2,3-d]пиримидина (XII) и 366 мг тетра-О-ацетил-β-D-рибофуранозы нагревали до полного расплавления, добавляли 5 мг бис(п-нитрофенил)фосфата и смесь перемешивали при 170° С в 18 мм рт. ст. в течение 0,5 ч. После охлаждения реакционную массу хроматографировали в системе четыреххлористый углерод — ацетон, 4 : 1. Из зоны с R_f 0,36—0,32 выделяли 20 мг (15%) соединения (XIII), [α]_D²³ +16,2° (с 1; хлороформ). УФ-спектр, λ_{макс}, нм (lg ε): 242, (4,20), 290 (3,88), Найдено, %: 50,76; Н 5,78; N 9,80. С₁₈H₂₃N₃O₇S. Вычислено, %: С 50,81; Н 5,45; N 9,87.

4-Метилмеркапто-5,6-дигидро-7-(β-D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (XIV). Деацетилювали 40 мг 4-метилмеркапто-(2',3',5'-три-О-ацетил-β-D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидина (XIII) 0,01 мл 0,1 н. раствора метилата натрия, как описано при получении соединения (VII). После хроматографической очистки в системе ацетон — бензол (2 : 1) из зоны с R_f 0,15—0,39 выделяли 20 мг (71%) соединения (XIV), [α]_D²³ -45,2° (с 1; метанол). УФ-спектр, λ_{макс}, нм (lg ε): 235 (4,13), 244 (4,22), 292 (3,85) (M⁺ 299).

4-Меркаптопиперидино[2,3-d]пиримидин (XVI). Тионировали 0,5 г 4-окси-пиперидино[2,3-d]пиримидина (XV) 1 г пятисернистого фосфора, как описано при получении соединения (XI). Выпавший осадок отфильтровывали, получали 0,35 г (63,2%) соединения (XVI), т.пл. 250—252° С

(из метанола). Найдено, %: С 49,73; Н 5,67; N 25,67. $C_7H_9N_3S$. Вычислено, %: С 50,20; Н 5,98; N 25,00.

4-Метилмеркаптопиперидино[2,3-*d*]пиримидин (XVII). Метилировали 267 мг 4-меркаптопиперидино[2,3-*d*]пиримидина (XVI) 0,2 мл подистого метила, как описано при получении соединения (XII). Выпавший осадок отфильтровывали, получали 220 мг (80,5%) соединения (XVII), т.пл. 264—266° С (из метанола). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ): 242 (4,25), 290 (3,56). Найдено, %: С 53,00; Н 6,13; N 23,20. $C_8H_{11}N_3S$. Вычислено, %: С 52,99; Н 6,12; N 23,18.

4-Метилмеркапто-8-(2',3',5'-три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)пиперидино[2,3-*d*]пиримидин (XVIII). Измельченную смесь 150 г 4-метилмеркаптопиперидино[2,3-*d*]пиримидина (XVII) и 350 мг тетра-О-ацетил-D-рибофуранозы нагревали до полного расплавления. К расплаву добавляли 10 мг *n*-толуолсульфокислоты и смесь перемешивали 3 ч при 160° С и 18 мм рт. ст. После охлаждения реакционную массу растворяли в хлороформе и хроматографировали в системе четыреххлористый углерод — ацетон, 4 : 1. Из зоны с *R*_f 0,45—0,40 выделяли 210 мг (49,5%) соединения (XVIII), $[\alpha]_D^{23} + 8^\circ$ (с 1; хлороформ). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ): 242 (4,41), 287 (3,97).

4-Метилмеркапто-8-(β -D-рибофуранозил)пиперидино[2,3-*d*]пиримидин (XIX). Деацетилировали 50 мг 4-метилмеркапто-8-(2',3',5'-три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)пиперидино[2,3-*d*]пиримидина (XVIII) 0,01 мл 0,1 н. раствора метилата натрия, как описано при получении соединения (XIV). Выпавший осадок отфильтровывали, перекристаллизовывали из метанола. Получали 30 мг (81%) соединения (XIX), т.пл. 217—219° С (из метанола), $[\alpha]_D^{23} - 34,3^\circ$ (с 1; диметилсульфоксид). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ): 242 (4,32), 290 (3,87). Найдено, %: С 49,56; Н 6,00; N 13,33. $C_{13}H_{19}N_3O_4$. Вычислено, %: С 49,82; Н 6,11; N 13,40.

5-Окси-5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидин (XXII). Раствор 100 мг 4-окси-5,6-дигидро-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидина (X) и 0,1 мг сернокислого аммония в 1,5 мл гексаметилдисилазана кипятили 9 ч. Избыток гексаметилдисилазана отгоняли в вакууме. Образовавшееся масло растворяли в 2 мл сухого дихлорэтана, добавляли раствор 230 мг тетра-О-ацетил-D-рибофуранозы в 2 мл сухого дихлорэтана и 0,24 мл SnCl₄. Смесь перемешивали 4 ч при 60° С, затем охлаждали до 20° С и промывали насыщенным раствором бикарбоната натрия. Водный слой отделяли от органического и экстрагировали хлороформом. Органические растворы объединяли, промывали водой, высушивали над Na₂SO₄ и упаривали. Остаток хроматографировали в системе бензол — ацетон, 1 : 1,5. Из зоны с *R*_f 0,20—0,15 выделяли 68,9 мг (23,9%) соединения (XXII), $[\alpha]_D^{23} + 22,7^\circ$ (с 1; хлороформ). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ), рН 7: 225 (4,28), 270 (3,80); рН 11: 223 (4,34), 268 (3,88) (*M*⁺ 395). Из зоны с *R*_f 0,49—0,38 выделяли 40 мг (13,9%) соединения (XXI), $[\alpha]_D^{23} + 5,4^\circ$ (с 1; хлороформ). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ), рН 1: 229 (4,34), 272 (3,73); рН 7: 227 (4,38), 270 (3,75) (*M*⁺ 395). Из зоны с *R*_f 0,64—0,56 выделяли 40 мг (12,5%) соединения (XX), $[\alpha]_D^{23} + 19,4^\circ$ (с 1; хлороформ). УФ-спектр, $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ), рН 1: 238 (4,35), 294 (3,80); рН 7: 238 (4,36), 294 (3,75); рН 11: 238 (4,39), 294 (3,82) (*M*⁺ 437).

Авторы выражают глубокую благодарность канд. физ.-мат. н. Л. А. Сибельдиной и Н. Ф. Сенетову за изучение спектров ¹³С-ЯМР, а также канд. хим. н. Б. С. Кикотю за изучение УФ-спектров.

ЛИТЕРАТУРА

1. Эктова Л. В., Толкачев В. Н., Корнвейц М. З., Преображенская М. Н. (1978) Бюл. орган. химия, 4, 1250—1255.
2. Bloch A. (1975) Ann. N. Y. Acad. Sci., 255, 576—596.
3. Верещагин Л. И., Гайнулина С. Р., Подскребышева С. А., Гайворонский Л. А.,

- Охашкина Л. Л., Воробьева В. Г., Латышев В. П. (1972) *Ж. орган. химии*, 8, 1129—1133.
4. Southon J. W., Pfeleiderer W. (1978) *Chem. Ber.*, 111, 996—1005.
 5. Gerster J., Carpenter B., Robins R., Townsend L. (1967) *J. Med. Chem.*, 10, 325—331.
 6. Граник В. Г., Глушков Р. Г. (1967) *Хим. фармацевт. ж.*, 16—20.
 7. Глушков Р. Г., Магидсон О. Ю. (1965) *Химия гетероцикл. соед.*, 240—245.
 8. Pugmire R. J., Grant D. M. (1968) *J. Amer. Chem. Soc.*, 90, 697—706.
 9. Pugmire R. J., Grant D. M. (1968) *J. Amer. Chem. Soc.*, 90, 4232—4238.
 10. Chenon M.-T., Pugmire R. J., Grant D. M., Panzica R. P., Townsend L. B. (1975) *J. Amer. Chem. Soc.*, 97, 4627—4635.
 11. Cook P. D., Dea P., Robins R. H. (1978) *J. Heterocycl. Chem.*, 15, 1—8.
 12. Полякова А. А., Хмельницкий Р. А. (1972) *Масс-спектрометрия в органической химии*, «Химия», Л.

Поступила в редакцию
21.II.1979

SYNTHESIS AND INVESTIGATION OF NUCLEOSIDES RELATED TO TUBERCIDIN ANTIBIOTIC

ЕКТОВА Л. В., ТОЛКАЧЕВ В. Н., РАДУКИНА Н. Л., ИВАНОВА Т. П.,

ДОБРЫНИН Я. В., ПРЕОБРАЗHENСКАЯ М. Н.

Cancer Research Center, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

α -Anomer of nucleoside, antibiotic tubercidin, was prepared by ammonolysis of previously described 4-chloro-7-(2',3',5'-tri-O-acetyl- α -D-ribofuranosyl)pyrrolo[2,3-d]pyrimidine. The synthesis of 7- β -D-ribofuranosylpyrrolo[2,3-d]pyrimidine and its 5,6-dihydrogenated analog as well as 4-methylmercapto-5,6-dihydro-7- β -D-ribofuranosylpyrrolo[2,3-d]pyrimidine was performed. A tubercidin analog - 4-methylmercapto-8- β -D-ribofuranosylpiperidino[2,3-d]pyrimidine was also synthesized. Ribosylation of 4-hydroxy-5,6-dihydropyrrolo[2,3-d]pyrimidine by silyl method yielded corresponding O-acetylated N7- and N1-ribofuranosides of the heterocycle as well as O-acetylated N3-ribofuranoside of 7-acetyl-4-oxo-3,4,5,6-tetrahydro-3*H*,7*H*-pyrrolo[2,3-d]pyrimidine. The growth inhibiting activity of tubercidin, its α -anomer and the other compounds of this series was compared in vitro using the ovarian cancer cell culture. It was shown that tubercidin and its α -anomer have a pronounced cytotoxic activity, the dihydrogenated derivatives are inactive, whereas piperidopyrimidine riboside exhibits a cytotoxic effect.