



УДК 547.318'455.522

НОВЫЙ ПОЛНЫЙ СИНТЕЗ АНТИБИОТИКА ТУБЕРЦИДИНА
(7-ДЕЗАЗААДЕНОЗИНА)*Эктова Л. В., Толкачев В. Н., Корнвейц М. З.,
Преображенская М. Н.**Онкологический научный центр
Академии медицинских наук СССР, Москва*

Предложен новый общий метод синтеза нуклеозидов пирроло[2,3-*d*]пиримидинов, основанный на гликозилровании 5,6-дигидропирроло[2,3-*d*]пиримидинов и их последующем дегидрировании. Сплавлением 4-хлор-5,6-дигидро-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидина с 1,2,3,5-тетра-*O*-ацетил-*D*-рибофуранозой в присутствии мода получен 4-хлор-5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-*O*-ацетил-β-*D*-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидин и соответствующий α-аномер. Дегидрирование γ-MnO₂ привело к β- или α-аномерам 4-хлор-7-(2',3',5'-три-*O*-ацетил-*D*-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидина, аммолизом β-изомера получен 4-амино-7-(β-*D*-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидин — антибиотик туберцидин, идентичный природному образцу.

Антибиотик-нуклеозид туберцидин — 4-амино-7-(β-*D*-рибофуранозил)-пирроло[2,3-*d*]пиримидин (7-дезазааденозин) образуется культурой *Streptomyces tubercidicus*, а также *S. sparsogenes* и *S. cuspidosporus*. Туберцидин и некоторые его аналоги и производные подавляют развитие культур клеток млекопитающих и опухолевых клеток, а также ряда экспериментальных опухолей животных, обладают антимикробным и противовирусным действием. Однако антибиотик высокотоксичен, что сделало невозможным его применение в медицине [1]. В организме туберцидин под действием аденозинкиназы фосфорилируется, фосфат подвергается дальнейшим метаболическим превращениям и включается в РНК и ДНК. Соответствующее основание, 4-аминопирроло[2,3-*d*]пиримидин, биологически неактивно, что связано с его неспособностью превращаться в организме в соответствующий нуклеотид. Туберцидин и его аналоги представляют собой интересные модели для молекулярно-биологических исследований. Поиск новых ингибиторов обмена нуклеиновых кислот в этом ряду весьма перспективен.

Впервые туберцидин был получен многостадийным синтезом из 4-амино-5-(2,2-диэтоксипропил)-6-(1Н)-пиримидинона и 2,3,4-три-*O*-ацетил-5-*O*-третил-*D*-рибозы через стадии образования рибозида 4-оксипирроло[2,3-*d*]пиримидина, его 4-хлорпроизводного и аммолиза последнего [2, 3]. Описано также получение 4-хлор-7-(β-*D*-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидина конденсацией силильного производного 4-хлорпирроло[2,3-*d*]пиримидина с ацетобромрибофуранозой в присутствии окиси ртути. При этом N₍₇₎-рибозид образуется с выходом 18% в смеси с N₍₁₎-рибозидом (11%) [4].

Ранее для гликозилрования индолов и азаиндолов было предложено использовать индолин-индольный метод [5]; при этом гликозилируется

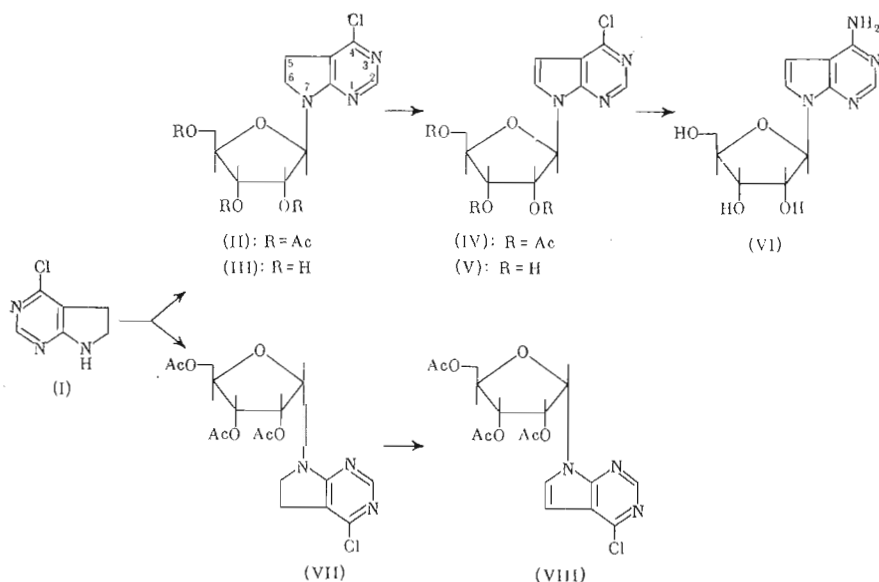
производное индолина, в котором NH-группа значительно более нуклеофильна, чем NH-группа индола. Следующая важная стадия — дегидрирование 1-гликозилиндолинов до 1-гликозилиндолов.

Задачей настоящей работы являлось изучение возможности применения этого метода в синтезе нуклеозидов пирролопиримидина, и в первую очередь антибиотика туберцидина.

Метод получения замещенных 5,6-дигидро-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидинов был разработан Р. Г. Глушковым с сотр. [6]. В синтезе туберцидина мы использовали 4-хлор-5,6-дигидро-7Н-пирроло[2,3-*d*]пиримидин (I) [7]. Гликозилирование (I) было осуществлено сплавлением с 1,2,3,5-тетра-*O*-ацетил-*D*-рибофуранозой в присутствии каталитических количеств иода. После хроматографического разделения с выходом 51% был выделен 4-хлор-5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-*O*-ацетил-β-*D*-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидин (II); кроме того, был получен α-аномер (VII) (5%) и 4-хлор-5,6-дигидро-7-ацетилпирроло[2,3-*d*]пиримидин (~7%).

Дегидрирование пирролино[2,3-*d*]пиримидинов ранее не было осуществлено. Можно было ожидать, что окислительно-восстановительный потенциал пирролинопиримидинов, и особенно их *N*-гликозидных производных, достаточно высок и дегидрирование встретит значительные трудности. Для дегидрирования гликозилиндолинов с электроноакцепторными заместителями и гликозилазаиндолинов — соединений с высоким окислительно-восстановительным потенциалом — ранее было предложено использовать активную MnO_2 , полученную по методу Аттенборо и сотр. [8—10]. Однако этим методом не удалось осуществить дегидрирование гликозида (II). Мы применили MnO_2 , полученную по методу Верещагина и сотр., в которой преобладает γ-форма ($\gamma-MnO_2$) [11]. С помощью $\gamma-MnO_2$ удается дегидрировать такие азаиндолины, которые не дегидрируются MnO_2 , приготовленной по методу Аттенборо и сотр. При использовании $\gamma-MnO_2$ из гликозида (II) с выходом 75% был получен 4-хлор-7-(2',3',5'-три-*O*-ацетил-β-*D*-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидин (IV). Дегидрирование рибозида (VII) в аналогичных условиях дало с выходом 70% 4-хлор-7-(2',3',5'-три-*O*-ацетил-α-*D*-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидин (VIII).

Деацетилизацией соединений (II) и (IV) метилатом натрия в метаноле были получены 4-хлор-5,6-дигидро-7-(β-*D*-рибофуранозил)пирроло[2,



Спектры ПМР синтезированных гликозидов широло[2,3-d]пиримидина

Соединение	Химические сдвиги, δ , м.д.											КССВ, Гц				Растворители
	Олс	2-Н	5-Н	6-Н	1'-Н	2'-Н	3'-Н	4'-Н	5'-H _a	5'-H _b	J _{5,6}	J _{1'2'}	J _{2'3'}	J _{3'4'}		
(II)	2,18; 2,16; 2,10	8,26	3,13	3,82	6,04	5,26	5,28		4,26		8,0	6,0	6,0	2,0	CDCl ₃	
(IV)	2,16 (2гр.); 2,05	8,66	6,70	7,44	6,45	5,77	5,59		4,39		3,8	5,8	5,8		CDCl ₃	
(VI) *		8,05	6,60	7,35	6,00	4,43	4,11	3,89		3,58	4,0	6,4	5,2	3,6	DMSO	
(VII)	2,11; 2,09; 2,06	8,26	3,12	3,82	6,40	5,58	5,35		4,48-4,08		8,0	6,0	6,0	4,5	CDCl ₃	
(VIII)	2,14; 2,14; 1,81	8,62	6,64	7,58	6,95	5,75	5,50	4,65 **	4,41 ***	4,22	4,0	5,2	5,2	5,2	CDCl ₃	
(III)		8,07	3,0		5,56	4,00			3,86-3,07		8,0	6,2			DMSO	
(V)		8,56	6,66	7,84	6,26	4,59	4,34	4,13		3,81	3,8	5,6	5,6	3,7	CD ₃ OD	

* Химический сдвиг сигнала NH₂-группы — 7,08 м.д. ** J_{4'5'} 3,3 Гц. J_{4'5'} 4,2 Гц. *** J_{5'a'5'b'} 12,4 Гц.

3-*d*]пиримидин (III) и 4-хлор-7-(β-*D*-рибофуранозил)-пирроло[2,3-*d*]пиримидин (V); свойства последнего совпали с описанными в литературе [3]. При аммонолизе соединения (IV) был получен 4-амино-7-(β-*D*-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидин (VI), идентичный природному туберцидину. ИК- и УФ-спектры природного и синтетического туберцидинов полностью совпадают. Спектр ПМР полученного туберцидина близок спектру ПМР природного образца, описанного в литературе [12].

Параметры спектров ПМР синтезированных соединений представлены в таблице. α-Конфигурация гликозидов (VII) и (VIII) была подтверждена при сравнении их ПМР-спектров со спектрами соединений (II) и (IV). Сигналы аномерных протонов гликозидов (VII) и (VIII) смещены в более слабое поле по сравнению с аналогичными сигналами гликозидов (II) и (IV) в соответствии с правилом о большем дезэкранировании сигнала 4'-H в α-аномерах по сравнению β-аномерами. Сигнал ацетоксильной группы при C_(2') в соединении (VIII) смещен в сильное поле по сравнению с сигналами остальных ацетоксильных групп и с сигналами ацетоксильных групп β-аномера (IV), что также подтверждает α-конфигурацию соединения (VIII). Для соединения (VIII) по сравнению с рибозидом (IV) также наблюдается смещение в слабое поле сигнала 4'-H, что свидетельствует в пользу α-конфигурации рибозида (VIII). В спектре ПМР пирролинового производного (VI) сдвигов сигналов 4'-H и C_(2')-OCOSCH₃ не наблюдается, так как пирролиновый цикл не проявляет магнитного анизотропного эффекта. Наблюдаемые различия в химических сдвигах ацетоксильных групп при C_(2') и 4'-H соответствующих α- и β-аномеров пирролиновых и пиррольных производных свидетельствуют о том, что эти группы находятся в области магнитного анизотропного эффекта пиррольного кольца, что возможно при предпочтительной *анти*-конформации гликозидной связи в этих соединениях [13—15].

Экспериментальная часть

Спектры ПМР снимали на приборе JNM-MH-100 при рабочей частоте 100 МГц, внутренний стандарт — тетраметилсилан. ИК-спектры записаны на спектрофотометре UR-10 в таблетках с KBr, УФ-спектры — на регистрирующем спектрофотометре Unicam SP-800 в 96% спирте; удельное вращение определено на поляриметре Perkin-Elmer 241. Препаративную хроматографию проводили в незакрепленном слое на пластинках (20 × 20 см) с силикагелем марки ЛСЛ₂₅₄ 5/40 мм (Chemapol, СССР) при толщине слоя 0,5 мм с нагрузкой не более 50 мг на пластинку. В качестве элюентов использовали те же системы растворителей, в которых проводили хроматографирование.

4-Хлор-5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-*O*-ацетил-β-*D*-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидин (II). Измельченную смесь 240 мг 4-хлор-5,6-дигидро-7H-пирроло[2,3-*d*]пиримидина (I) и 600 мг тетра-*O*-ацетил-*D*-рибофуранозы нагревали до полного расплавления. К расплаву добавили 7 мг иода и смесь перемешивали при 140° и 18 мм рт. ст. в течение 2 ч. После охлаждения реакционную массу растворяли в хлороформе и хроматографировали в системе бензол — ацетон (2 : 1). Из зоны с R_f 0,61—0,71 выделили 325 мг (51%) соединения (II): [α]_D²³—2,2° (с 1, хлороформ); λ_{макс}, нм (lg ε): 206 (4,18); 254 (3,99); 280 (3,66). Найдено, %: С 49,55; Н 4,78; N 10,38. C₁₇H₂₀N₃O₇Cl. Вычислено, %: С 49,34; Н 4,87; N 10,15. Из зоны с R_f 0,51—0,58 выделили 32 мг (5%) соединения (VII): [α]_D²³ +35,0° (с 1, хлороформ); λ_{макс}, нм (lg ε): 205 (4,11); 256 (3,87); 280 (3,56). Найдено, %: С 49,16; Н 5,42; N 9,75. C₁₇H₂₀N₃O₇Cl. Вычислено, %: С 49,34; Н 4,87; N 10,15.

4-Хлор-7-(2',3',5'-три-*O*-ацетил-β-*D*-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидин (IV). К раствору 390 мг 4-хлор-5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-*O*-ацетил-β-*D*-рибофуранозил)пирроло[2,3-*d*]пиримидина (II) в 60 мл без-

водного бензола добавляли 7,8 г γ -MnO₂ и перемешивали при комнатной температуре 24 ч. Осадок отфильтровывали, промывали хлороформом, фильтрат упаривали и остаток хроматографировали в системе бензол — ацетон (4 : 1). Из зоны с R_f 0,44—0,52 выделили 290 мг (74,9%) соединения (IV): $[\alpha]_D^{23} -4,7^\circ$ (с 1, хлороформ); $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ): 222 (4,48); 275 (3,80). Найдено, %: С 49,40; Н 4,68; N 10,27. C₁₇H₁₈N₃O₇Cl. Вычислено, %: С 49,58; Н 4,41; N 10,20.

4-Амино-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (туберцидин) (VI). 100 мг 4-хлор-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидина (IV) растворяли в 20 мл безводного метанола, насыщенного при -10° аммиаком, и нагревали в автоклаве 3 ч при 150° . Охлажденный раствор упаривали досуха, остаток дважды перекристаллизовывали из воды. Получили 20 мг (31%) соединения (VI), т. пл. $243-244^\circ$ (с разл.), $[\alpha]_D^{23} -70^\circ$ (с 0,4, 50% уксусная кислота); $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ): 227 (4,28); 270 (4,08) в 0,01 н. HCl; 208 (4,20), 270 (4,07) в 0,01 н. NaOH; лит. [1], т. пл. $247-248^\circ$ (с разл.); $[\alpha]_D^{17} -67^\circ$ (с 1, 50% уксусная кислота); $\lambda_{\text{макс}}$ 227, 272 нм (ϵ 12200) в 0,01 н. HCl; 270 нм (ϵ 12100) в 0,01 н. NaOH.

4-Хлор-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- α -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (VIII). 150 мг 4-хлор-5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- α -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидина (VII) дегидрировали 3 г γ -MnO₂, как описано при получении соединения (IV). После хроматографирования в системе бензол — ацетон (4 : 1) из зоны с R_f 0,31—0,41 выделили 104 мг (70%) соединения (VIII), $[\alpha]_D^{23} +36,4^\circ$ (с 1, хлороформ); $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ): 223 (4,47); 275 (3,75). Найдено, %: С 49,23; Н 4,51. C₁₇H₁₈N₃O₇Cl. Вычислено, %: С 49,58; Н 4,41.

4-Хлор-5,6-дигидро-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (III). 100 мг 4-хлор-5,6-дигидро-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидина (II) растворяли в 1,5 мл безводного метанола. К полученному раствору добавляли 0,01 мл 0,1 н. раствора метилата натрия. Смесь перемешивали при комнатной температуре 0,5 ч. Выпавший осадок отфильтровывали и перекристаллизовали из метанола. Получили 60 мг (86,5%) соединения (III), т. пл. $192-193^\circ$, $[\alpha]_D^{23} -31,2^\circ$ (с 1, пиридин); $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ): 206 (4,21); 257 (4,15); 285 (3,79). Найдено, %: С 45,66; Н 4,68; N 15,04; Cl 12,24. C₁₁H₁₄N₃O₄Cl. Вычислено, %: С 45,92; Н 4,90; N 14,60; Cl 12,32.

4-Хлор-7-(β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидин (V). 60 мг 4-хлор-7-(2',3',5'-три-О-ацетил- β -D-рибофуранозил)пирроло[2,3-d]пиримидина (IV) деацетилювали, как описано при получении соединения (III). Метанольный раствор нейтрализовывали добавлением смолы дауэкс-50 (H⁺). Смолу отделяли, фильтрат упаривали в вакууме. Остаток хроматографировали в системе хлороформ — метанол (3 : 1). Из зоны с R_f 0,18 выделили 27 мг (65%) соединения (V), $[\alpha]_D^{23} -64,2^\circ$ (с 1, этанол — вода, 1 : 1), $\lambda_{\text{макс}}$, нм (lg ϵ): 225 (4,29); 273 (3,53). Лит. [3] $[\alpha]_D^{21} -63,2^\circ$ (с 1, этанол — вода, 1 : 1).

Авторы выносят глубокую благодарность проф. Р. Г. Глушкову и сотрудникам его лаборатории за консультации и помощь при получении исходного гетероцикла, а также канд. хим. н. И. В. Ярцевой за помощь при интерпретации спектров ПМР.

ЛИТЕРАТУРА

1. Suhadolnik R. J. (1970) Nucleoside Antibiotics, pp. 348—349, John Wiley and Sons, Inc., N. Y.
2. Mizuno Y., Ikebara M., Watanabe K. A., Suzuki S. (1963) J. Org. Chem., 28, 3331—3336.
3. Gerster J., Carpenter B., Robins R., Townsend L. (1967) J. Med. Chem., 10, 326—331.
4. Tolman R., Tolman G., Robins R., Townsend L. (1970) J. Heterocycl. Chem., 7, 799—806.

5. Преображенская М. Н. (1967) Успехи химии, 36, 1760—1798.
6. Граник В. Г., Жидкова А. М., Глушков Р. Г. (1977) Успехи химии, 46, 685—711.
7. Граник В. Г., Глушков Р. Г. (1967) Хим.-фармацевт. ж., № 5, 16—20.
8. Attenburrow J., Cameron A. F. B., Charman J. H., Evans R. M., Hems V. A., Jansen A. V. A., Walker T. (1952) J. Chem. Soc., 1094—1111.
9. Толкачев В. Н., Преображенская М. Н. (1975) Ж. орган. химии, 11, 702—703.
10. Эктова Л. В., Мишикер Т. Д., Янцева И. В., Преображенская М. Н. (1977) Химия гетероцикл. соедия., 8, 1083—1086.
11. Верецагин Л. И., Гайнулина С. Р., Подскребышева С. А., Гайворонский Л. А., Охавкина Л. Л., Воробьева В. Г., Латышев В. П. (1972) Ж. орган. химии, 8, 1129—1133.
12. Townsend L. (1970) in Synth. Proc. Nucleic Acid Chem. (Zorbach W. W., Tipson R. S., eds.), vol. 2, pp. 345—346, John Wiley and Sons, Inc., N. Y.
13. Montgomery J. A. (1974) Carb. Res., 33, 184—187.
14. Преображенская М. Н., Вигдорчик М. М., Костюченко Н. П., Шейнкер Ю. Н. (1969) Докл. АН СССР, 185, 617—620.
15. Муханов В. И., Преображенская М. Н., Костюченко Н. П., Филипенко Т. Я., Суворов Н. Н. (1974) Ж. орган. химии, 10, 587—594.

Поступила в редакцию
21.II.1978

NEW TOTAL SYNTHESIS OF TUBERCIDIN ANTIBIOTIC (7-DEAZADENOSINE)

ЕКТОВА Л. В., ТОЛКАЧЕВ В. Н., КОРНВЕЙТС М. З.,
ПРЕОБРАЗHENСКАЯ М. Н.

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

A new total synthesis of pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine nucleosides by glycosylation of substituted dihydropyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines and subsequent dehydrogenation is proposed. Fusion of 4-chloro-5,6-dihydro-7H-pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine with 1,2,3,5-tetra-O-acetylribofuranose in the presence of iodine leads to 4-chloro-5,6-dihydro-7H-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-*D*-ribofuranosyl)pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine and to corresponding α-anomer. These compounds were dehydrogenated with γ-MnO₂ to give 4-chloro-7-(2',3',5'-tri-O-acetyl-β-(or α)-*D*-ribofuranosyl)pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidines. The β-isomer was converted by ammonolysis to 4-amino-7-(β-*D*-ribofuranosyl)pyrrolo[2,3-*d*]pyrimidine (antibiotic tubercidin), identical with the naturally-occurring product.