



УДК 615.33+547.963.3

ЛИГАНДЫ, ОБЛАДАЮЩИЕ СРОДСТВОМ  
К ОПРЕДЕЛЕННЫМ ПАРАМ ОСНОВАНИЙ ДНКIV. АНАЛОГИ АКТИНОМИЦИНА D. АМИДНЫЕ ПРОИЗВОДНЫЕ  
АКТИНОЦИНА С ЗАМЕСТИТЕЛЯМИ В ПОЛОЖЕНИИ 7 \**Никитин С. М., Жузе А. Л., Брылов А. С., Гогтих В. П.**Институт молекулярной биологии Академии наук СССР, Москва*

Синтезирован ряд амидных производных актиноцина с заместителями в положении 7 хромофора, и установлено участие амидных групп в образовании водородных связей при связывании производных актиноцина с ДНК. Показано, что аналоги с объемными заместителями в положении 7 феноксазоновой части сохраняют способность связываться с ДНК.

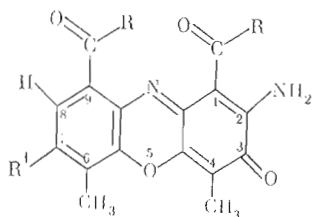
Несмотря на обширные исследования взаимодействия актиномицина D с ДНК, структура образующегося при этом комплекса все еще однозначно не установлена [2—5]. В настоящее время большая часть исследователей придерживается различных вариантов гипотетической модели интеркалирования феноксазонового хромофора антибиотика между соседними парами оснований ДНК. Наиболее разработанной является модель Джейн и Собела, основанная на рентгеноструктурном исследовании комплекса актиномицина D с дезоксигуанозином [6]. Значительно отличается от нее модель Гурского [7], согласно которой феноксазоновый хромофор антибиотика не интеркалирует между парами оснований, а вместе с пептидными кольцами располагается в узкой бороздке ДНК.

В литературе описано большое число аналогов актиномицина D с частично различающимися последовательностями аминокислот в пептидных кольцах [4, 5]. Несомненно, что замена одних аминокислот другими должна влиять на конформационное состояние пептидных колец, что в свою очередь может сказываться на связывании антибиотика с ДНК. Однако, по всей вероятности, непептидные кольца вносят основной вклад в образование комплекса актиномицина D с ДНК.

Одним из возможных подходов для выяснения структуры комплекса актиномицина D с ДНК является синтез аналогов антибиотика и изучение их связывания с ДНК. С этой целью синтезированы соединения (I) — (V), представляющие собой аналоги актиноцина — 2-амино-4,6-диметилфеноксазин-3-он-1,9-дикарбоновой кислоты (VI). Последний является гетероциклическим хромофором актиномицина. Синтезированные нами производные актиноцина (I—III, V), не содержащие пептидных колец, связывались с ДНК (крайне низкая растворимость их в воде не позволила нам

\* Сообщение III см. [1]. Сокращение: Glu — остаток гликолевой кислоты.

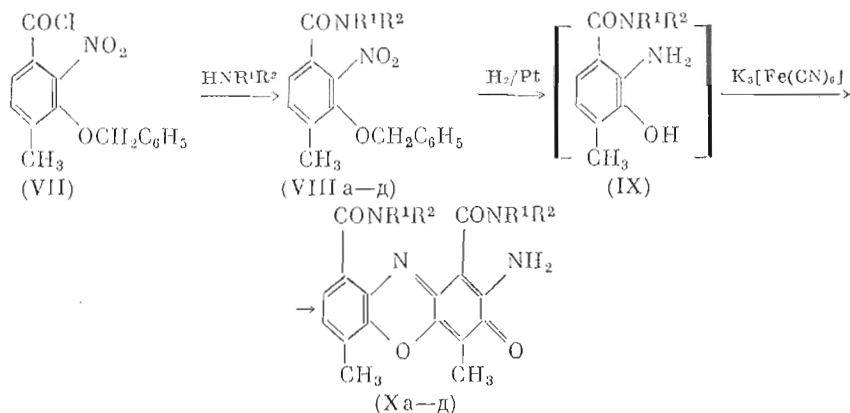
определить константы связывания).



- (I) R=Gly-OMe, а) R'=H, б) R'=NO<sub>2</sub>, в) R'=NH<sub>2</sub>, г) R'=CH<sub>3</sub>CONH  
 (II) R=Gly-NH<sub>2</sub>, R'=H  
 (III) R=NHEt, а) R'=H, б) R'=NO<sub>2</sub>, в) R'=NH<sub>2</sub>, г) R'=BrCH<sub>2</sub>CONH,  
 д) R'=Z-Val-Glo-NH\*, е) R'=AcO<sup>-</sup>·<sup>+</sup>H<sub>2</sub>Val-Glo-NH  
 (IV) R=NEt<sub>2</sub>, а) R'=H, б) R'=NO<sub>2</sub>  
 (V) R=NHCH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>NEt<sub>2</sub>, R'=H  
 (VI) R=OH, R'=H

Производные актиноцима (I) — (V) были синтезированы по описанной в литературе [8, 9] схеме конденсацией хлорангидрида 2-нитро-3-бензилокси-4-метилбензойной кислоты (VII) с соответствующим аминокомпонентом с последующим восстановлением амида (VIII а — д) над палладиевой чернью в аминофенол (IX), который без выделения окисляли феррицианидом калия до амида актиноциповой кислоты (Xa — д).

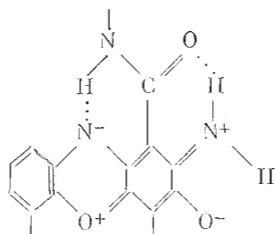
Синтез 7-пиптропроизводных (Iб, IIIб и IVб) осуществлен прямым нитрованием соответствующих аналогов нитрующей смесью, поскольку нам не удалось получить их по схеме, описанной в работе [10]. С целью получения N-ацильных производных мы опробовали ряд известных в литературе методов создания пептидной связи, но лишь хлорангидридный метод оказался приемлемым. По этой причине в качестве ацилирующего агента выбран хлорангидрид N-карбобензоксигруппы L-валинаглуконевой кислоты, открывающий возможность введения различных заместителей по аминогруппе валина после удаления N-защитной группы. Каталитическое гидрирование N-карбобензоксигруппы над палладиевой чернью проходило с низким выходом в связи с образованием побочных продуктов в процессе гидрирования и последующего окисления восстановленного хромофора до фепоксазона, поэтому N-карбобензоксигруппу соединения (IIIд) удаляли насыщенным раствором IBr в уксусной кислоте. Синтез соединения типа (IIIд) с глицином вместо L-валина в боковой цепи не был осуществлен, поскольку нам не удалось ни провести конденсацию триэтиламиниевой



- а) R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>; б) R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=CH<sub>2</sub>CO<sub>2</sub>NH<sub>2</sub>; в) R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>;  
 г) R<sup>1</sup>=R<sup>2</sup>=CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, д) R<sup>1</sup>=H, R<sup>2</sup>=CH<sub>2</sub>CH<sub>2</sub>N(CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>

соли N-карбобензоксиглицина с соединением (IIIг), ни получить хлорангидрид N-карбобензоксиглицилгликолевой кислоты.

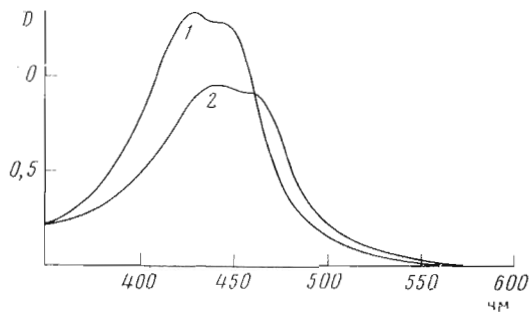
Как по модели Гурского, так и по модели Джейн и Собела, обе амидные группы, соединяющие пептидные кольца с хромофором, участвуют в связывании актиномицина D с ДНК, образуя с помощью амидных протонов водородные связи с атомами кислорода фосфатных групп или атомами азота в третьем положении гуанина соответственно. Поэтому интересно было изучить роль амидных связей, соединяющих феноксазоновый хромофор молекулы с пептидной частью, при взаимодействии аналога с ДНК. Синтезированный нами аналог (IV), не содержащий амидных протонов, заметного сродства к ДНК не имел. Поскольку аналог (IV) отличается от других главным образом неспособностью его полностью замещенных амидных групп быть донорами протонов, можно утверждать, что CONH-группы действительно участвуют в образовании водородных связей при связывании антибиотика с ДНК, выступая исключительно как допору протонов. Отметим при этом относительно высокую растворимость соединения (IV) по сравнению с соединениями (I—III, V) как в воде, так и в органических растворителях. Мюллер и Крозерс [3], авторы первого варианта модели интеркалирования, предполагали, что в связывании актиномицина D с ДНК большой вклад вносит резонансная форма



Замещение амидного протона на этильную группу не позволяет такой структуре образовываться, что может служить объяснением отсутствия связывания аналога (IV) с ДНК.

По модели Собела и Джейн, в связывании актиномицина D с ДНК участвуют карбоксильные группы трезинов. В соответствии с этим предположением соединения (Ia) и (II), обладающие подобными группами, должны образовывать более прочные комплексы с ДНК по сравнению с соединением (IIIa), не имеющим таких групп. Мы не обнаружили различий в спектральных характеристиках комплексов этих соединений с ДНК, что, однако, не может считаться фактом, полностью отрицающим модель Собела и Джейн. Можно предположить, что образование дополнительных водородных связей, увеличивая константы связывания, не вызывает изменения положения хромофорной части молекулы антибиотика по отношению к основаниям ДНК и не приводит, таким образом, к изменению регистрируемой нами видимой части спектра поглощения комплекса антибиотика с ДНК.

Ни одно из синтезированных в данной работе соединений не обладало медленной кинетикой связывания с ДНК, которая присуща самому актиномицину D, что подтверждает известное в литературе предположение о связи медленной кинетики взаимодействия с конформационными перестройками, происходящими в пептидных кольцах антибиотика при его связывании с ДНК [3]. Чтобы измерить константу связывания хромофорной части антибиотика с ДНК, был синтезирован аналог (V), известный в литературе как актиномицин [8]. Данные, полученные при титровании ДНК этим аналогом, близки к результатам, опубликованным ранее Мюллером и Крозерсом [3], причем при сокращении числа свободных мест на ДНК обнаружено образование второго типа комплекса, характеризующегося меньшей константой связывания, а также тем, что актиномицин заши-



Спектры поглощения свободного (1) и связанного с ДНК (2) актиномицина (V). Концентрация актиномицина 40 мкМ, ДНК *E. coli* — 0,25 мМ пар нуклеотидов. Буферный раствор содержит 15 мМ NaCl и 1,5 мМ цитрат натрия, pH 7,0. Оптическое поглощение актиномицина выражено в произвольных единицах. Спектры получены на приборе Cary 118 (США)

маст всего одну пару оснований на ДНК. Наличие подобного типа комплекса известно также и у актиномицина D.

В данной работе исследовалось также влияние различных заместителей в положении 7 хромофорной части молекулы на связывание с ДНК. Такое замещение должно по-разному влиять на связывание аналогов в зависимости от того, интеркалирует ли хромофорная часть молекулы между парами оснований ДНК или располагается в узкой бороздке. В случае интеркаляции в районе атома  $C_{(7)}$  хромофорной части имеется небольшое пространство, допускающее наличие заместителей лишь минимальных размеров. В случае расположения хромофорной части антибиотика, согласно модели Гурского, ограничения накладываются в основном на поперечные размеры заместителя, тогда как его длина должна влиять меньше, поскольку он может располагаться в узкой бороздке ДНК. Так как пептидные кольца также располагаются в узкой бороздке ДНК, заместители даже с небольшими поперечными размерами должны затруднять конформационные переходы пептидных колец при комплексообразовании, увеличивая тем самым время, необходимое для полного связывания.

Ранее описан ряд 7-замещенных актиномицинов, связывание которых с ДНК было изучено [11]. Все они связываются с ДНК, хотя и несколько хуже, чем актиномицин (исключение составляет лишь 7-аминоактиномицин). Однако размеры введенных заместителей не столь велики, чтобы на основании связывания этих аналогов с ДНК можно было сделать выбор между рассмотренными выше моделями.

Среди синтезированных нами 7-замещенных аналогов актиномицина имеются соединения с достаточно большими заместителями, и тем не менее они связываются с ДНК. Исключение составляет лишь аналог (IIIд), связывание которого с ДНК очень слабое. Он, по-видимому, имеет другой тип комплекса с ДНК, поскольку батохромный и гипохромный эффекты, наблюдаемые при его связывании с ДНК, значительно меньше соответствующих эффектов при связывании самого актиномицина D или его аналогов (I, II, IIIа—IIIг, IIIе, V) (рисунок). Тем не менее весьма затруднительно объяснить факт связывания с ДНК аналогов (IIIг) и в особенности (IIIе) с позиции какого-либо варианта модели интеркалирования. В то же время связывание этих аналогов с ДНК не противоречит модели Гурского, а отсутствие нормального связывания у аналога (IIIд) может быть объяснено возможным стекинг-взаимодействием N-карбобензоксигруппы с ароматической системой хромофора.

### Экспериментальная часть

Растворы веществ в органических растворителях высушивали над  $Na_2SO_4$ , растворители упаривали в вакууме при 15 мм рт. ст. и 20–25° С. Гидрирование проводили при 20° С и атмосферном давлении над катали-

заторм Адамса [12] или палладиевой чернью [13]. Индивидуальность полученных соединений контролировали с помощью ТСХ на пластинках Silufol (ЧССР) в следующих системах: А — бензол — ацетон (7:1); Б — бензол — ацетон (1:1). Температуру плавления определяли на приборе фирмы Electrothermal (Англия). Спектры поглощения снимали на УФ-спектрофотометре Beckman-25 (США) в MeOH. При колоночной хроматографии использовали силикагель L-40—100 мкм (Chemapol, ЧССР) и сефадекс LH-20 (Pharmacia, Швеция). Спектры ПМР снимали на ЯМР-спектрометрах BS-487-С (ЧССР) с рабочей частотой 80 МГц и Varian XL-100 (США) с рабочей частотой 100 МГц с гексаметилдисилоксаном в качестве внутреннего стандарта. Масс-спектры снимали на приборе MS 1302 (Ленинград) \*.

*Связывание аналогов актиноцина с ДНК* определялось спектрофотометрически. Сравнивались спектры поглощения аналога, растворенного в буфере (15 мМ NaCl и 1,5 мМ цитрат натрия, pH 7,0) и в растворе ДНК из тимуса теленка (Sigma, США). Концентрация аналога 5 мкМ, концентрация ДНК 0,1 мМ пар оснований. Принимали, что аналог связывается с ДНК, если его максимум поглощения в видимой области сдвигается в длинноволновую часть спектра и уменьшается по интенсивности.

*Метилловый эфир N-(2-нитро-3-бензилокси-4-метилбензоил) глицина (VIIIa)*. Раствор 1,26 г (4,3 ммоль) 2-нитро-3-бензилокси-4-метилбензойной кислоты [9] и 4,20 г (35 ммоль)  $SOCl_2$  в 250 мл абс. бензола кипятили 1 ч и упаривали в вакууме. Остаток дважды упаривали в вакууме с 25 мл абс. бензола. Твердый остаток растворяли в 10 мл бензола и, добавив к нему 0,56 г (4,4 ммоль) хлоргидрата метилового эфира глицина, кипятили 16 ч. После упаривания растворителя остаток кристаллизовали из 50% водного этанола с добавлением активированного угля. Выход 1,20 г (80%), т. пл. 132° С,  $R_f$  0,31 (А). Спектр ПМР (в  $CDCl_3$ ,  $\delta$ , м. д.): 2,31с (Ar-CH<sub>3</sub>, 3H); 3,74с (O-CH<sub>3</sub>, 3H); 4,11д (NH-CH<sub>2</sub>, 2H, J 6 Гц); 4,94с (CH<sub>2</sub>, 2H); 7,30 м (Ar, 7H).

*Диметилловый эфир актиноциноилдиглицина [Ia]*. Раствор 0,36 г (1 ммоль) метилового эфира N-(2-нитро-3-бензилокси-4-метилбензоил) глицина (VIIIa) в 50 мл метанола гидрировали над палладиевой чернью. Через 1 ч раствор выливали в 280 мл фосфатного буфера (pH 7,2) и при 40° С приливали к нему в течение 1—2 мин раствор 0,60 г (1,6 ммоль)  $K_2[Fe(CN)_6]$  в 23 мл воды. Охлаждали до 5° С, выпавшие мелкие красные кристаллы отфильтровывали, промывали водой и высушивали. Выход соединения (Ia) 0,20 г (75%), т. пл. 303° С,  $R_f$  0,60 (Б),  $\lambda_{max}$  442 нм. Спектр ПМР (в  $CF_3COOH$ ,  $\delta$ , м. д.): 2,17с (4-CH<sub>3</sub>, 3H); 2,70с (6-CH<sub>3</sub>, 3H); 3,30с (O-CH<sub>3</sub>, 6H); 4,53м (NH-CH<sub>2</sub>, 4H); 7,63д (7-Н, 1H, J 8 Гц); 7,91д (8-Н, 1H, J 8 Гц); 8,29т (NH-CH<sub>2</sub>, 1H, J 6 Гц).  $M^+$  470.

*Диметилловый эфир 7-нитроактиноциноилдиглицина (Iб)*. В 5 мл охлажденной до -5° С конц.  $H_2SO_4$  (d 1,83) растворяли 260 мг (0,55 ммоль) соединения (Ia) и добавляли по каплям раствор 0,051 мл азотной кислоты (d 1,52) в 0,3 мл конц.  $H_2SO_4$ . После перемешивания в течение 30 мин при температуре от -2 до -4° С раствор выливали на смесь 100 г льда с 50 мл  $CHCl_3$ , перемешивали и отделяли органический слой. Водную фазу промывали несколько раз хлороформом. Органические экстракты объединяли, промывали насыщенным  $NaHCO_3$ , сушили и упаривали в вакууме. Хроматографировали на колонке с силикагелем в системе Б. Выход 135 мг (50%), т.пл. 285° С,  $R_f$  0,63 (Б),  $\lambda_{max}$  446 нм. Спектр ПМР (в  $CF_3COOH$ ,  $\delta$ , м.д.): 2,44 с (4-CH<sub>3</sub>, 3H); 2,87 с (6-CH<sub>3</sub>, 3H); 4,00 с (O-CH<sub>3</sub>, 6H); 4,52 м (NH-CH<sub>2</sub>, 4H); 8,60 с (8-Н, 1H).  $M^+$  515.

*Диметилловый эфир 7-аминоактиноциноилдиглицина (Iв)*. Раствор 135 мг (0,26 ммоль) соединения (Iб) в 150 мл метанола гидрировали над

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

катализатором Адамса до образования бледно-зеленого раствора. Раствор перемешивали 1 ч на воздухе, отфильтровывали от катализатора, фильтрат упаривали. Остаток хроматографировали на колонке (7×60 см) с силикагелем в системе Б. Выход 100 мг (79%), т.пл. 272° С,  $R_f$  0,52 (Б),  $\lambda_{\max}$  509 нм. Спектр ПМР (в  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ,  $\delta$ , м.д.): 2,40 с (4- $\text{CH}_3$ , 3H); 2,72 с (6- $\text{CH}_3$ , 3H); 3,97 с (O- $\text{CH}_3$ , 6H); 4,50 м (NH- $\text{CH}_2$ , 4H); 8,19 с (8-H, 1H).  $M^+$  485.

*Диметилловый эфир 7-(ацетиламино)актиноциноилдиглицина (Iг).* К 20 мг (0,041 ммоль) соединения (Iв), растворенного в 50 мл абс. диоксана, добавляли 9,7 мг (0,12 ммоль) хлористого ацетила и 12,5 мг (0,12 ммоль) триэтиламина. Через 5 мин выпавший осадок хлоргидрата триэтиламина отфильтровывали, промывали диоксаном и объединенный фильтрат упаривали. Остаток хроматографировали на колонке (2×40 см) с силикагелем в системе Б. Выход соединения (Iг) 18 мг (83%),  $R_f$  0,61 (Б), т.разл. 360° С,  $\lambda_{\max}$  448 нм. Спектр ПМР (в  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ,  $\delta$ , м.д.): 2,47 с (4- $\text{CH}_3$ , 3H); 2,65 с (6- $\text{CH}_3$ , 3H); 3,00 с ( $\text{CH}_2\text{CO}$ , 3H); 4,00 с ( $\text{CH}_3\text{O}$ , 6H); 4,51 м ( $\text{CH}_2\text{-NH}$ , 4H); 8,50 с (8-H, 1H).  $M^+$  527.

*Амид N-(2-нитро-3-бензилокси-4-метилбензоил)глицина (VIIIб).* К 0,50 г (1,4 ммоль) метилового эфира N-(2-нитро-3-бензилокси-4-метилбензоил)глицина (VIIIа) в 5,7 мл метанола, охлажденного до -10° С, добавляли 5,7 мл метанола, насыщенного при 0° С аммиаком, и оставляли при 20° С. Через 2 дня выпавший осадок отфильтровывали и перекристаллизовали из 95% этанола. Выход соединения (VIIIб) 0,48 г (99%), т.пл. 168° С,  $R_f$  0,83 (этилацетат). Спектр ПМР (в  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 2,48 с ( $\text{CH}_3\text{-Ar}$ , 3H); 3,93 д ( $\text{CH}_2\text{NH}$ , 2H,  $J$  5,5 Гц); 4,90 с ( $\text{CH}_2\text{-Ar}$ , 2H); 7,31 м (ароматич. 7H); 8,44 т ( $\text{NH-CH}_2$ , 1H,  $J$  5,5 Гц).

*Диамид актиноциноилдиглицина (II).* Раствор 0,35 г (1 ммоль) амида N-(2-нитро-3-бензилокси-4-метилбензоил)глицина (VIIIб) в 55 мл метанола гидрировали над палладиевой чернью. После прекращения поглощения водорода зеленый раствор отфильтровывали от катализатора и выщивали в 280 мл предварительно нагретого до 40° С фосфатного буфера (рН 7,2). Выпавшие при добавлении раствора 0,60 г  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  в воде мелкие красные кристаллы после охлаждения реакционной смеси до 10° С отфильтровывали, растворяли в хлороформе, сушили и упаривали хлороформ в вакууме. Выход соединения (II) 0,18 г (69%), т.разл. 310° С,  $R_f$  0,60 (Б),  $\lambda_{\max}$  440 нм. Спектр ПМР (в  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ,  $\delta$ , м.д.): 2,43 с (4- $\text{CH}_3$ , 3H); 2,70 с (6- $\text{CH}_3$ , 3H); 4,63 м ( $\text{CH}_2\text{NH}$ , 4H); 7,60 д (7-H, 1H,  $J$  8 Гц); 7,90 д (8-H, 1H,  $J$  8 Гц); 8,38 т (NH- $\text{CH}_2$ , 1H,  $J$  6 Гц).

*Ди-(N-этиламид)актиноцина (IIIа).* Раствор 1,4 г (4,8 ммоль) 2-нитро-3-бензилокси-4-метилбензойной кислоты в абс. бензоле кипятили 1 ч с 5 мл  $\text{SOCl}_2$  и затем упаривали в вакууме. Остаток дважды упаривали в вакууме с 30 мл абс. бензола. К растворенному в абс. бензоле твердому остатку добавляли 0,8 г (18 ммоль) этиламина. Выпавший через сутки осадок отфильтровывали, перекристаллизовывали из бензола, растворяли в метаноле и гидрировали над палладиевой чернью до прекращения поглощения водорода. Зеленоватый раствор отфильтровывали от катализатора и выщивали в 800 мл фосфатного буфера (рН 7,2), предварительно нагретого до 40° С. При этой температуре к раствору по каплям добавляли раствор 1,5 г  $\text{K}_3[\text{Fe}(\text{CN})_6]$  в 30 мл буферного раствора. Охлаждали до 5° С и выпавшие мелкие красные кристаллы отфильтровывали, промывали водой и высушивали. Выход соединения (IIIа) 0,7 г (75%), т.разл. 290° С,  $R_f$  0,61 (Б),  $\lambda_{\max}$  443 нм. Спектр ПМР (в  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ,  $\delta$ , м.д.): 1,86 т ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ , 6H,  $J$  8 Гц); 2,66 с (4- $\text{CH}_3$ , 3H); 2,94 с (6- $\text{CH}_3$ , 3H); 3,95 к ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ , 4H,  $J$  8 Гц); 7,83 д (7-H, 1H,  $J$  9 Гц); 8,03 д (8-H, 1H,  $J$  9 Гц).  $M^+$  382.

*Ди-(N-этиламид)7-нитроактиноцина (IIIб).* В 1,7 мл конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$ , охлажденной до -10° С, растворяли 70 мг (0,18 ммоль) соединения (IIIа) и через 15 мин добавляли 0,1 мл смеси  $\text{HNO}_3$  (d 1,52) и конц.  $\text{H}_2\text{SO}_4$  (1 : 6 по

объему). Через 30 мин перемешивания при  $-5^{\circ}\text{C}$  раствор выливали на 50 г льда с 20 мл  $\text{CHCl}_3$ . Органический слой отделяли, водную фазу промывали хлороформом. Экстракты соединяли, промывали насыщенным  $\text{NaHCO}_3$ , сушили и упаривали в вакууме. Остаток хроматографировали на колошке ( $4 \times 40$  см) с силикагелем в системе Б. Выход соединения (IIIб) 48 мг (68,5%), т.разл.  $300^{\circ}\text{C}$ ,  $R_f$  0,63 (Б),  $\lambda_{\text{макс}}$  441 нм. Спектр ПМР (в  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ,  $\delta$ , м.д.): 1,42 т ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ , 6H,  $J$  8 Гц); 2,39 с (4- $\text{CH}_3$ , 3H); 2,86 с (6- $\text{CH}_3$ , 3H); 3,63 к ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ , 4H,  $J$  8 Гц); 8,55 с (8-H, 1H).  $M^+$  427.

Ди-(*N*-этиламид) 7-аминоактиноцина (IIIв). Раствор 20 мг (0,05 ммоль) соединения (IIIб) в метаноле гидрировали над катализатором Адамса до образования светло-зеленого раствора. Отфильтровав от катализатора, раствор оставляли перемешиваться 1 ч на воздухе. Раствор темно-красного цвета упаривали в вакууме, остаток хроматографировали на колонке ( $2 \times 40$  см) с силикагелем в системе Б, отбирая темно-красную зону. Выход соединения (IIIв) 18 мг (95%), т.разл.  $320^{\circ}\text{C}$ ,  $R_f$  0,52 (Б),  $\lambda_{\text{макс}}$  511 нм. Спектр ПМР (в  $\text{CF}_3\text{COOH}$ ,  $\delta$ , м.д.): 1,36 т ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ , 6H,  $J$  8 Гц); 2,37 с (4- $\text{CH}_3$ , 3H); 2,72 с (6- $\text{CH}_3$ , 3H); 3,70 к ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ , 4H,  $J$  8 Гц); 8,12 с (8-H, 1H).  $M^+$  397.

Ди-(*N*-этиламид) 7-(бромацетиламино)актиноцина (IIIг). Соединение (IIIв) обрабатывали пятью эквивалентами хлорангидрида бромуксусной кислоты по методике, аналогичной синтезу соединения (Iг). Выход соединения (IIIг) количественный, т.разл.  $270^{\circ}\text{C}$ ,  $R_f$  0,61 (Б),  $\lambda_{\text{макс}}$  445 нм. Спектр ПМР (в  $\text{CD}_3\text{OD}$ ,  $\delta$ , м.д.): 1,05 т ( $\text{CH}_3\text{CH}_2$ , 6H,  $J$  7 Гц); 2,04 с (4- $\text{CH}_3$ , 3H); 2,26 с (6- $\text{CH}_3$ , 3H); 3,34 к ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ , 4H,  $J$  7 Гц); 3,86 с ( $\text{CH}_2$ , 2H); 7,60 с (8-H, 1H).

*N*-Карбобензокси-*L*-валилгликолевая кислота. Раствор 5,5 г (22 ммоль) *N*-карбобензокси-*L*-валина, 4,16 г (20 ммоль) *tert*-бутилового эфира бромуксусной кислоты и 30 мл (22 ммоль) триэтиламина в 100 мл абс. этилацетата кипятили в течение 5,5 ч. Реакционную смесь обрабатывали водой, 1 н.  $\text{HCl}$  и насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$ , сушили и упаривали в вакууме. Оставшееся масло растворяли в 150 мл трифторуксусной кислоты. Через 1 ч раствор упаривали, остаток растворяли в этилацетате и экстрагировали (5  $\times$  50 мл) насыщенным раствором  $\text{NaHCO}_3$ . Бикарбонатные экстракты объединяли и подкисляли 1 н.  $\text{HCl}$  до pH 3. Выпавшее масло экстрагировали этилацетатом, сушили и упаривали в вакууме. В остатке было густое бесцветное масло, через 3 сут оно затвердело в аморфную стеклообразную массу. Выход *N*-карбобензокси-*L*-валилгликолевой кислоты 7,52 г (97%). Спектр ПМР (в  $\text{CCl}_4$ ,  $\delta$ , м.д.): 0,94 м ( $\text{CH}_3$ , 6H); 2,22 м ( $\text{C}_\alpha\text{H}$ , 1H); 4,25 м ( $\text{C}_\beta\text{H}$ , 1H); 4,60 с ( $\text{OCH}_2\text{CO}$ , 2H); 5,02 с ( $\text{CH}_2\text{-Ar}$ , 2H); 7,25 с (Ar, 5H); 11,14 с (OH, 1H).

Ди-(*N*-этиламид) 7-(*N*-карбобензокси-*L*-валилгликолиламино)актиноцина (IIIд). Соединение (IIIв) обрабатывали пятью эквивалентами хлорангидрида *N*-карбобензокси-*L*-валилгликолевой кислоты по методике, аналогичной синтезу соединения (Iг). Для получения хлорангидрида *N*-карбобензокси-*L*-валилгликолевую кислоту (5 эквивалентов по отношению к (IIIв)) растворяли в избытке  $\text{SOCl}_2$  и полученный раствор выдерживали 1 ч при  $40^{\circ}\text{C}$ . Реакционную смесь упаривали в вакууме, а остаток дважды упаривали в вакууме с 5 мл абс. бензола. Выход соединения (IIIд) количественный,  $R_f$  0,60 (Б),  $\lambda_{\text{макс}}$  446 нм. Спектр ПМР (в  $\text{CDCl}_3$ ,  $\delta$ , м.д.): 0,97 м ( $\text{CH}_3$  алифатич., 12H); 1,95 с (4- $\text{CH}_3$ , 3H); 2,17 с (6- $\text{CH}_3$ , 3H); 3,65 к ( $\text{CH}_2\text{CH}_3$ , 4H,  $J$  7 Гц); 4,25 м ( $\text{C}_\alpha\text{H}$ , 1H); 4,60 с ( $\text{OCH}_2\text{CO}$ , 2H); 5,07 с ( $\text{CH}_2\text{-Ar}$ , 2H); 7,25 с (Ar, 5H); 7,57 с (8-H, 1H).

Ацетат ди-(*N*-этиламида) 7-(*L*-валилгликолиламино)актиноцина (IIIе). К 20 мг (0,03 ммоль) соединения (IIIд) прибавляли 2 мл насыщенного раствора  $\text{NH}_4\text{Ac}$  в уксусной кислоте и выдерживали 40 мин при  $20^{\circ}\text{C}$ . Реакционный раствор упаривали в вакууме, твердый остаток раство-

ряли в 80 мл смеси этилацетата и 0,5 н. HCl (1 : 1). Водный слой отделяли, промывали этилацетатом, подщелачивали твердым NaHCO<sub>3</sub> и экстрагировали выпавший продукт хлороформом. Органический экстракт промывали водой, высушивали и упаривали в вакууме. Остаток растворяли в 5 мл ледяной уксусной кислоты и упаривали избыток кислоты в вакууме. Образовавшийся ацетат (IIIe) растворяли в 5 мл метанола и пропускали через колонку (2×110 см) с сефадексом LH-20 в метаноле со скоростью 3 мл/ч. Выход соединения (IIIe) количественный, т. разл. 280° С, R<sub>f</sub> 0,78 (Б+2% Et<sub>3</sub>N). Спектр ПМР (в CD<sub>3</sub>OD, δ, м.д.): 1,39 м (CH<sub>3</sub>, 12H); 2,24 с (4-CH<sub>3</sub>, 3H); 2,51 с (6-CH<sub>3</sub>, 3H); 3,68 к (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 4H, J 7 Гц); 5,24 с (OCH<sub>2</sub>CO, 2H); 7,80 с (8-H, 1H).

*Ди-(N-диэтиламид) актиноцина (IVa)*. Синтез проводили по методике, аналогичной методике синтеза соединения (IIIa), используя вместо этиламина диэтиламин. Выход соединения (IVa) 52%. Дополнительное количество соединения (IVa) получали, экстрагируя хлороформом маточный раствор после отделения основной порции вещества. Общий выход 64%, т. разл. 270° С, R<sub>f</sub> 0,68 (Б), λ<sub>макс</sub> 448 нм. Спектр ПМР (в CF<sub>3</sub>COOH, δ, м.д.): 1,34 т (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, 12H, J 7 Гц); 2,32 с (4-CH<sub>3</sub>, 3H); 2,61 с (6-CH<sub>3</sub>, 3H); 3,71 к (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 8H, J 7 Гц); 7,18 д (7-II, 1H, J 8 Гц); 7,57 д (8-II, 1H, J 8 Гц).

*Ди-(N-диэтиламид) 7-нитроактиноцина (IVб)*. Синтез проводили по методике, аналогичной методике синтеза соединения (IIIб). Выход соединения (IVб) 52%, т. разл. 320° С, R<sub>f</sub> 0,73 (Б), λ<sub>макс</sub> 447 нм. Спектр ПМР (в CDCl<sub>3</sub>, δ, м.д.): 1,19 т (CH<sub>3</sub>CH<sub>2</sub>, 12H, J 7 Гц); 2,18 с (4-CH<sub>3</sub>, 3H); 2,65 с (6-CH<sub>3</sub>, 3H); 3,13 м (CH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>, 8H); 7,74 с (8-II, 1H).

*Актинамин (V)*. Раствор 1,4 г (4,8 ммоль) 2-нитро-3-бензилокси-4-метилбензойной кислоты в абс. бензоле кипятили 1 ч с 5 мл SOCl<sub>2</sub>. Бензол и избыток SOCl<sub>2</sub> упаривали в вакууме. Остаток дважды упаривали в вакууме с 30 мл абс. бензола и к твердому хлорангидриду приливали раствор 1,2 г (10 ммоль) N,N-диэтилэтилендиамина в 15 мл абс. диоксана. Через 2 ч смесь выливали в воду со льдом. После того как лед растаял, раствор подщелачивали твердым NaHCO<sub>3</sub> и экстрагировали выпавший продукт этилацетатом. Светло-желтый экстракт сушили и упаривали в вакууме. Остаток (масло 1,75 г) растворяли в MeOH и гидрировали над палладиевой чернью до прекращения поглощения водорода. Отфильтрованный от катализатора раствор зеленоватого цвета выливали в 400 мл фосфатного буфера (рН 7,2) и окисляли при перемешивании добавлением в течение 5 мин раствора 4,9 г K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] в 100 мл буфера при 40° С. После охлаждения раствор подщелачивали NaHCO<sub>3</sub> и выпавший продукт экстрагировали хлороформом. Органический экстракт сушили и упаривали в вакууме. Остаток перекристаллизовывали из бензола. Выход соединения (V) 0,90 г (71%), т.пл. 211,5° С, R<sub>f</sub> 0,4 (Б+2% Et<sub>3</sub>N+2% MeOH). По данным работы [8], т.пл. 208–209° С.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Гроховский С. Л., Жузе А. Л., Готтих Б. П. (1978) Биоорган. химия, 4, 1078–1086.
2. Hamilton L., Fuller W., Reich E. (1963) Nature, 198, 538–540.
3. Müller W., Crothers D. M. (1968) J. Mol. Biol., 35, 251–290.
4. Hollstein U. (1974) Chem. Revs, 74, 625–652.
5. Meienhofer J., Atherton E. (1977) in: Structure-Activity Relationships among the Semisynthetic Antibiotics (Perlman D., ed.), pp. 427–529, Acad. Press, N. Y.
6. Jain S. C., Sobell H. M. (1972) J. Mol. Biol., 68, 21–34.
7. Гурский Г. В. (1969) Молекулярн. биология, 3, 749–757.
8. Seela F. (1971) Z. Naturforsch., 26, 875–878.
9. Weinstein B., Crews O. P., Leafner M. A., Baker B. R., Goodman L. (1962) J. Org. Chem., 27, 1389–1395.
10. Brockmann H., Müller W., Peterssen-Borstel H. (1966) Tetrahedron Lett., 30, 3531–3534.



11. Sengupta S. K., Schaer D. (1978) *Biochim. et biophys. acta*, **521**, 89-100.
12. Синтезы органических препаратов (1949) т. I, с. 357-364, Изд-во иностр. лит., М.
13. Гринштейн Дж., Вишиц М. (1965) *Химия аминокислот и пептидов*, с. 694, «Мир», М.

Поступила в редакцию  
9.VIII.1979

После доработки  
5.X.1979

#### DNA BASE PAIR SPECIFIC LIGANDS. IV. ACTINOMYCIN D ANALOGS: AMIDE DERIVATIVES OF ACTINOCIN WITH SUBSTITUENTS IN POSITION 7

NIKITIN S. M., ZHUZE A. L., KRYLOV A. S., GOTTIKH B. P.

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

A number of amide derivatives of actinocin bearing the substituents in position 7 of the chromophore are synthesized. The amide groups are established to be involved into hydrogen bond formation upon binding of the actinocin derivatives to DNA. It is shown that the actinocin analogs with bulky substituents in position 7 of the phenoxazone moiety retain the ability to bind to DNA.

---