

УДК 547.857.7

СИНТЕЗ АДЕНИНА-8-<sup>13</sup>C

В. Д. БЛИННИКОВА, В. И. ПИЧУЖКИН

(Кафедра неорганической и аналитической химии)

Применение органических соединений, меченных <sup>13</sup>C, в биологических исследованиях открывает принципиально новые возможности изучения процессов, протекающих в живых организмах, на молекулярном уровне.

Цель наших исследований — разработка метода синтеза аденина, меченного <sup>13</sup>C в восьмом положении пуринового основания. В качестве исходного сырья использовался цианид калия, меченный <sup>13</sup>C. В литературе описано несколько способов синтеза аденина: из мочевой кислоты [6], тиомочевины [7, 8] и из 4,5,6-триаминопиримидина [1—3, 5, 6, 9]. Сравнив их, мы пришли к заключению, что для введения метки <sup>13</sup>C в аденин наиболее приемлем синтез аденина конденсацией 4,5,6-триаминопиримидина с меченой муравьиной кислотой (реакция 1) и с последующей циклизацией формильного производного в диэтаноламине (реакция 2).

Необходимый для синтеза аденина K<sup>13</sup>COOH получали 4-часовым гидролизом цианида калия K<sup>13</sup>CN в герметичных стальных ампулах при 150° практически со 100% выходом.

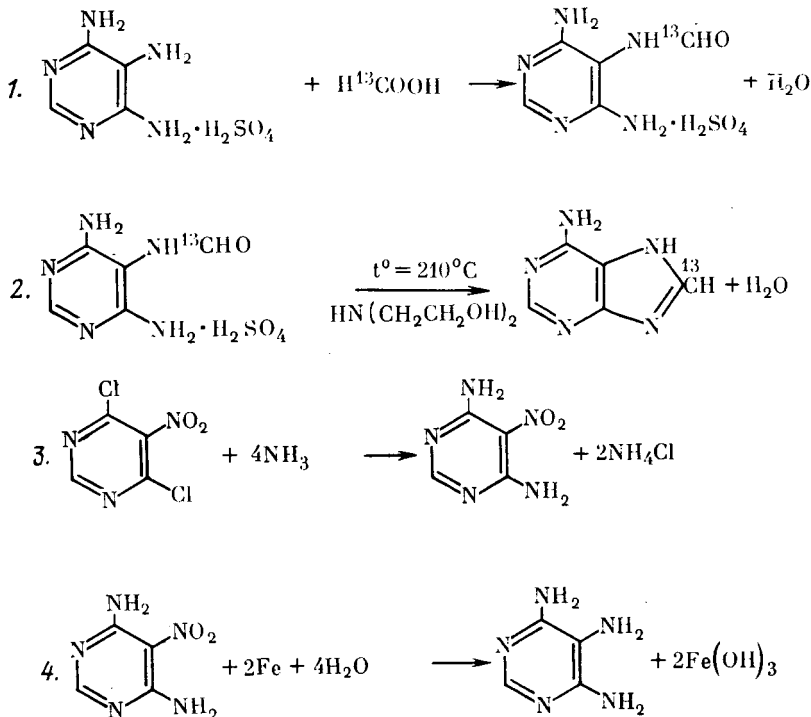
4,5,6-триаминопиримидин синтезировали из 4,6-дихлор-5-нитропиримидина в две стадии: на первой стадии проводили аминирование 4,6-дихлор-5-нитропиримидина аммиаком, растворенным в этиловом спирте (ре-

акция 3), на второй — восстанавливали железом нитрогруппу промежуточного продукта (реакция 4).

## СИНТЕЗ

## 4,5,6-ТРИАМИНОПИРИМИДИНА

Получение 4,6-диамино-5-нитропиримидина. 17 г (0,088 М) перекристаллизованного из этилового спирта 4,6-дихлор-5-нитропиримидина (т.пл. = 101°C, реактив) [10] растворяли в 100 мл этилового спирта при 60° в течение 1,5 ч. Аминирование 4,6-дихлор-5-нитропиримидина проводили насыщенным спиртовым раствором аммиака. Этиловый спирт (80 мл) насыщали газообразным аммиаком из баллона при 0°. О количестве растворенного аммиака судили по приросту массы, который составил 12,84 г. К полученному темному бурому раствору 4,6-дихлор-5-нитропиримидина через обратный холодильник приливали небольшими порциями спиртовой раствор аммиака. Реакционная масса вспенивалась и выделялся светло-желтый осадок. Смесь нагревали в течение 10—15 мин при 60°, затем оставляли на ночь при комнатной температуре. На следующий день осадок отфильтровывали, промывали водой до отсутствия Cl<sup>-</sup> в промывных водах и



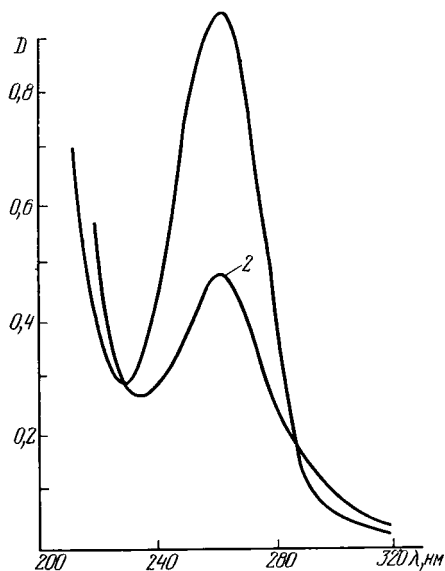


Рис. 1. УФ спектр аденина-8-<sup>13</sup>C.  
1 — аденин; 2 — аденин-8-<sup>13</sup>C.

сушили при 70—80°. Получено 11,0 г 4,6-диамино-5-нитропиримидина с 72 % выходом. Продукт разлагается, не плавясь, при 300° и плохо растворяется в воде и органических растворителях, может быть перекристаллизован из большого количества уксусной кислоты.

Для  $C_4H_5N_5O_2$  —

вычислено, %: С 30,96; Н 3,22; N 45,16;  
найденно, %: С 30,41; Н 3,34; N 44,98.

Получение сульфата 4,5,6-триаминопиримидина. К суспензии 11 г (0,071 M) 4,5-диамино-5-нитропиримидина в 44 мл дистиллированной воды добавляли 14,2 г (0,25 M) порошка восстановленного железа и 2,3 мл (0,026 M) концентрированной соляной кислоты. Смесь нагревали на водяной бане до 100° в течение 2,5 ч. По окончании реакции смесь охлаждали до комнатной температуры и отфильтровывали. Зеленоватого цвета маточник подкисляли 70 мл 50 % серной кислоты. При охлаждении выделялся светло-желтый осадок сульфата 4,5,6-триаминопиримидина. Смесь оставляли на ночь в холодильнике, на следующий день отфильтровывали, промывали дважды ледяной уксусной кислотой порциями по 10 мл, затем 1 мл эфира и 1 мл спирта и сушили при 100—110°. Выделения чистого основания не проводили, так как для синтеза аденина использовали сернокислую соль 4,5,6-триаминопиримидина. Получено 11,5 г продукта, выход 73 %, при  $t > 250^\circ$  разлагается.

Для  $C_4H_9N_5SO_4$  —

вычислено, %: С 21,52; Н 4,03; N 31,39;  
S 14,34;  
найденно, %: С 21,30; Н 4,10; N 30,82;  
S 15,05.

### СИНТЕЗ АДЕНИНА-8-<sup>13</sup>C

Получение сульфата N-(4,6-диаминопиримидинил-5) формамида-<sup>13</sup>C. К 23,3 мл водного раствора мече-

ного формиата калия, содержащего 4,2 г (0,05 M)  $KH^{13}COO$ , добавляли 0,5 мл концентрированной HCl и разбавляли водой до 81 мл. В результате образовывался раствор 0,05 M  $KH^{13}COO$  в 81 мл 0,07 n. HCl. К нему добавляли эквимолекулярное количество 11,2 г (0,05 M) сульфата 4,5,6-триаминопиримидина. Смесь нагревали до 50—70° в круглодонной колбе объемом 250 мл при перемешивании до полного растворения осадка в течение 5 ч, затем раствор охлаждали и сутки выдерживали на холоду. В результате выпадал ярко-желтый осадок сульфата N-(4,6-диаминопиримидинил-5) формамида, который отфильтровывали, промывали этиловым спиртом дважды по 10 мл и сушили под вакуумом в течение дня при комнатной температуре.

Получено 6,52 г (0,026 M) промежуточного продукта с выходом 52 %, при  $t > 270^\circ$  разлагается.

Для  $C_5H_9N_5SO_5$  —

вычислено, %: С 23,90; Н 3,58; N 27,89;  
S 12,75; O 31,88;  
найденно, %: С 23,42; Н 3,80; N 27,14;  
S 13,48; O 32,16.

Получение аденина-8-<sup>13</sup>C циклизацией. 6,5 г (0,026 M) сульфата N-(4,6-диаминопиримидинил-5) формамида-<sup>13</sup>C суспендировали в широкой пробирке в 60 мл диэтанолamina и нагревали в медленном токе азота в течение 90 мин при 210° на глицериновой бане. После охлаждения и разбавления 100 мл воды смесь обрабатывали 120 мл 0,22 M раствора нитрата серебра для осаждения продукта в виде серебряной соли. Мелкодисперсный, почти коллоидный осадок серебряной соли аденина отделяли центрифугированием и дважды промывали водой. Промытый осадок сероголубого цвета разлагался 1 н. раствором соляной кислоты с одновременным выпадением осадка хлорида серебра. Последний отфильтровывали от раствора и фильтрат, содержащий солянокислую соль аденина, упаривали с добавлением 1 % от массы аденина активированного угля до объема 50 мл, фильтровали, нейтрализовали 25 % раствором  $NH_4OH$  до pH 7 и выдерживали на холоду. Чистый аденин выпадал в осадок, который отфильтровывали, промывали ледяной дистиллированной водой и сушили при 90°. Фильтрат упаривали и снова повторяли операцию по выделению аденина. Получено 1,635 г меченого аденина-8-<sup>13</sup>C, выход 50 %, т. пл. 359—360° (с разл.).

Идентификация аденина-8-<sup>13</sup>C. Проведен спектрофотометрический анализ меченого образца на спектрофотометре СФ-4. Спектр поглощения синтезированного аденина идентичен спектру эталона, которым служил аденин чехословацкой фирмы «Хемапол» (рис. 1).  $\lambda_{max} = 263$  нм.  $lg \epsilon = 0,468$ .

В масс-спектре молекулярные ионы аденина-8-<sup>13</sup>C довольно стабильны, поэтому по пикам масс 135 и 136 можно судить о количестве введенной метки. На масс-спектрограмме интенсивность масс 135 и 136 приблизительно одинакова. Это позволяет сделать вывод, что общее содержание <sup>13</sup>C в исследуемом образце при введении его в одно положение составляет не менее 50 %, следовательно, синтез аденина-8-<sup>13</sup>C прошел без существенного изотопного разбавления в сравнении с исходным содержи-

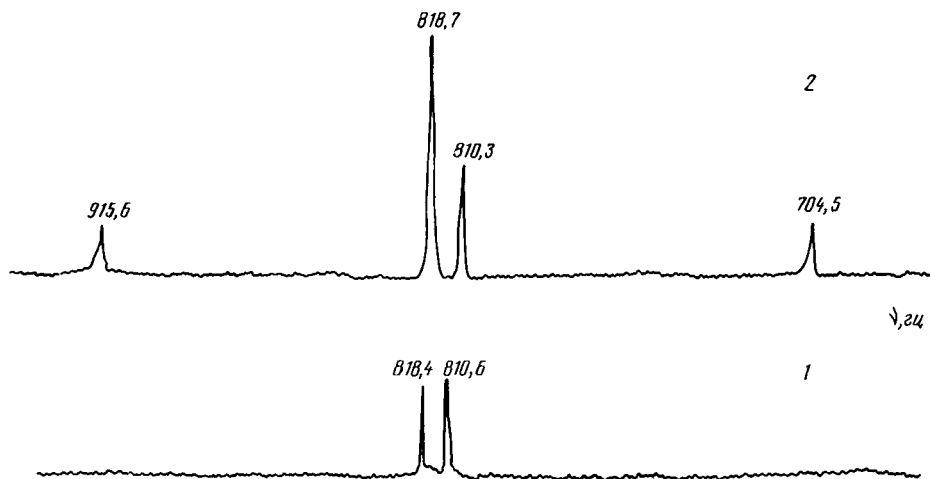


Рис. 2. Спектр ЯМР аденина-8-<sup>13</sup>C.  
Обозначения те же, что на рис. 1.

ем изотопа <sup>13</sup>C, составляющим 54 % в дианиде калия. Масс-спектрометрический анализ подтвердил также высокую чистоту синтезированного аденина.

Спектр ЯМР, снятый в растворе дейтерированного метилового спирта на приборе XL-100A, показал наличие <sup>13</sup>C в положении 8 у синтезированного аденина с концентрацией <sup>13</sup>C 47 ± 2 % (рис. 2).

Проведен также бумажно-хроматографический анализ аденина-8-<sup>13</sup>C на бумаге

Filtrak FN-1 в системе н-бутанол-0,1 M NH<sub>4</sub>OH (1:1), который показал полную идентичность синтезированного продукта с аденином, выпускаемым отечественной промышленностью R<sub>f</sub> = 0,36.

Таким образом, проведенный анализ аденина-8-<sup>13</sup>C подтверждает достаточную чистоту продукта и содержание <sup>13</sup>C в восьмом положении с концентрацией не менее 45 %, что отвечает техническим требованиям к синтезированному препарату.

#### ЛИТЕРАТУРА

1. Abrams R., Clark L.—J. Am. Chem. Soc., 73, 4609 (1951).—2. Baddiley I., Lythgoe B., Todd A. R.—J. Chem. Soc., 386 (1943).—3. Bendich Q., Tinker I. F., Brown C. B.—J. Am. Chem. Soc., 70, 3109 (1948). 4. Bennett E. L.—J. Am. Chem. Soc., 74, 2420 (1952).—5. Cavalieri L. F., Tinker I. R., Bendich Q.—J. Am. Chem. Soc., 71, 533 (1949).—6. Davoll Lowy B. A. — J. Am. Chem. Soc., 73,

2936 (1951). — 7. Craf S., Engelman M., Gillespie H. B., Graf Q.—Cancer Res., 11, 388 (1951).—8. Traube W. — Lieb. Ann., 331, 86 (1904).—9. Robins R. K., Dille K. I., Willits C. H., Gristensen B. L.—J. Am. Chem. Soc., 75, 263 (1953).—10. Zorbach W. W.—Synthesis, 329 (1970).

Статья поступила 4 октября 1982 г.

#### SUMMARY

Synthesis of adenine was worked out, labelled with <sup>13</sup>C isotope in the eighth position of purine base by method of condensation of 4,5,6-triaminopyrimidine with labelled potassium formate and the following cyclization of formil derivative in diethanolamine. The output is 50 per cent. Paper-chromatographic, mass-spectrometric isotopic and NMR analyses prove sufficient purity of adenine synthesized and absence of considerable isotope dilution.