



УДК 615.332 + 547.475.1

СТРОЕНИЕ ОКСИКИСЛОТЫ, ВЫДЕЛЕННОЙ
ИЗ АНТИБИОТИКА МАДУМИЦИНА

*Кудина М. Б., Потапова Н. П., Аликеева Н. М.,
Бражникова М. Г., Филиппова Т. М*, Розынов Б. В.***

*Институт по изысканию новых антибиотиков
Академии медицинских наук СССР, Москва*

Описывается выделение, физико-химические свойства и строение алифатической кислоты, выделенной из кислотного гидролизата антибиотика мадумицина. Кислота была выделена в кристаллическом виде, получен ее метиловый эфир и гидрированный метиловый эфир. На основании химических свойств и спектральных данных этих веществ для кислоты предложено строение 4,6-диметил-5-оксигептен-2-(транс)-овой кислоты.

Из кислотного гидролизата антибиотика мадумицина [1] путем экстракции хлороформом был выделен липофильный продукт с кислотными свойствами. После хроматографической очистки на кремневой кислоте продукт был получен в кристаллическом виде. В ИК-спектре кислоты (рис. 1) имеется полоса поглощения при 1640 см^{-1} , которая может быть отнесена к колебаниям $\text{C}=\text{C}$ -связи. Полоса в области $2500\text{--}3500\text{ см}^{-1}$ относится к ν_{OH} , а полоса при 1700 см^{-1} — к $\nu_{\text{C}=\text{O}}$ карбоксильной группы. При подщелачивании кислоты спиртовым раствором NaOH до $\text{pH } 10$ образуется натриевая соль, при этом в ИК-спектре исчезает полоса при 1700 см^{-1} , но появляются полосы диссоциированной карбоксильной группы при 1580 и 1420 см^{-1} .

Таким образом, на основании данных ИК-спектроскопии можно сделать вывод, что выделенное нами вещество представляет собой алифатическую неопределенную кислоту. Кислота дает положительную реакцию с KMnO_4 и бромом.

Из элементного анализа с учетом молекулярного веса следует суммарная формула $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_3$.

Спектр ПМР раствора кислоты в дейтероацетоне показал наличие 16 протонов и позволил локализовать все функциональные группы (рис. 2).

Так, в спектре ПМР наблюдаются два сигнала в области протонов метильных групп при насыщенном атоме углерода, один из которых ($\delta 1,07$ м. д.) образован тремя, а другой ($\delta 0,92$ м. д.) шестью метильными протонами, что говорит о наличии в молекуле трех метильных групп. Кроме того, в спектре наблюдаются два однопротонных сигнала в области, характерной для олефиновых протонов ($\delta 6,93$ и $5,82$ м. д.) и три однопротонных сигнала с $\delta 1,58$, $2,50$ и $3,23$ м. д.

* Всесоюзный научно-исследовательский витаминный институт, Москва.

** Институт биоорганической химии им. М. М. Шемякина Академии наук СССР, Москва.

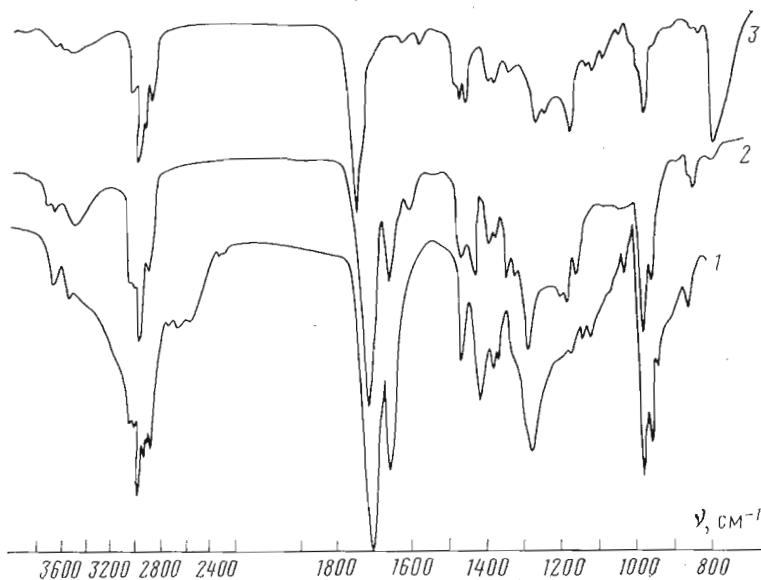


Рис. 1. ИК-спектры кислоты (1), метилового эфира кислоты (2) и гидрированного метилового эфира кислоты (3). Раствор в CHCl_3

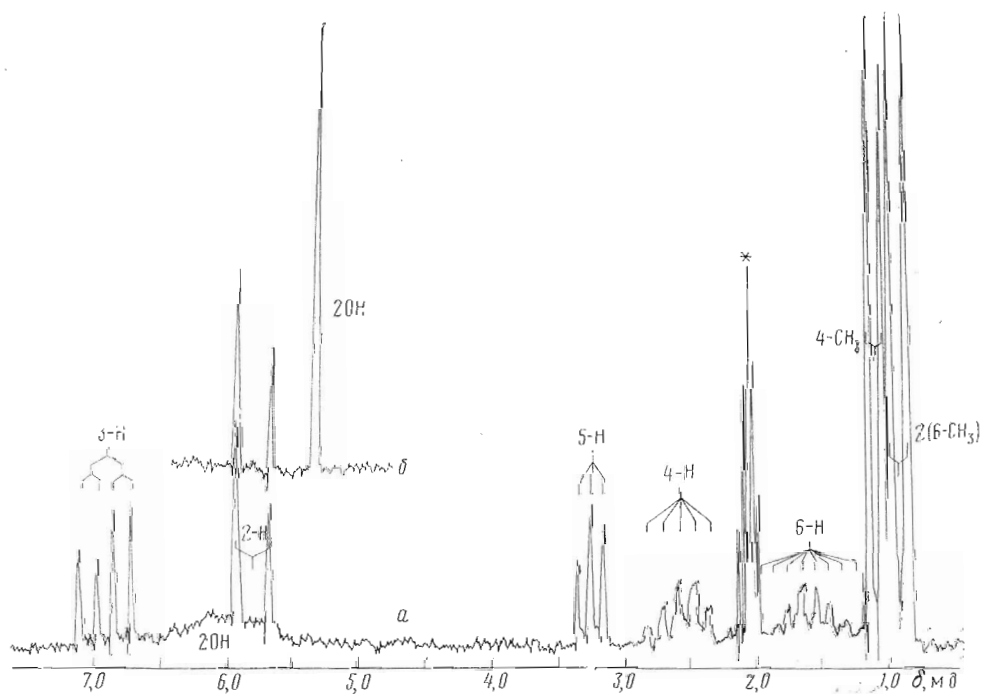
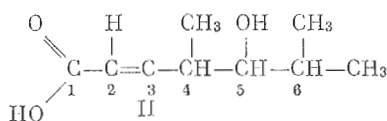


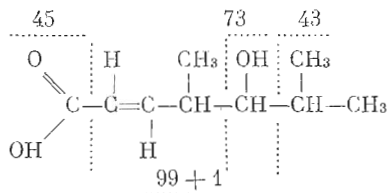
Рис. 2. Спектр ПМР раствора кислоты в дейтероацетоне: *a* — при 34° ; *b* — при 60° (* — сигнал полностью дейтерированного ацетона)

По местоположению в спектре трех последних сигналов можно предположить, что все они образованы протонами, находящимися у насыщенных атомов углерода, при этом протон с δ 1,58 м. д. расположен при углероде, содержащем только алкильные заместители, протон с δ 2,50 — при углероде, содержащем алкенильный заместитель и протон с δ 3,23 м. д. — при углероде с электроотрицательным заместителем, например гидроксильном. Кроме того, в спектре кислоты наблюдается широкий двухпротонный сигнал с δ 5,95 м. д. (рис. 2, а, 34°), который при повышении температуры сужается и заметно сдвигается в сильное поле (рис. 2, б, δ 5,35 м. д., при 60°), т. е. этот сигнал образован двумя гидроксильными протонами. Эти данные позволяют предположить, что соединение имеет следующую структуру:



Вещество было подробно исследовано с помощью протонного магнитного двойного резонанса (ПМДР) (тотальный, $\gamma_{\text{H}_2}/2\pi \gg J$). Так, при облучении 3-Н (δ 6,93 м. д.) дублет ($J_{2\text{-H}, 3\text{-H}}$ 15,5 Гц) второго олефинового протона (δ 5,82 м. д.) превращается в синглет. Следовательно, олефиновые протоны являются вицинальными. Величина константы спин-спинового взаимодействия между ними (15,5 Гц) отвечает *транс*-конфигурации двойной связи. В этом же эксперименте в результате подавления спин-спинового взаимодействия между 3-Н и 4-Н сигнал 4-Н (δ 2,50 м. д.) превращается из дублета ($J_{4\text{-H}, 3\text{-H}}$ 8,2 Гц) квинтетов ($J_{\text{CH}_3, 4\text{-H}}$ 6,4 Гц, $J_{4\text{-H}, 5\text{-H}}$ 5,8 Гц) в квинтет. Облучение 4-Н приводит к изменению мультиплетности сразу трех сигналов: сигнал 3-Н и триплет с δ 3,23 м. д. (5-Н) становятся дублетами ($J_{2\text{-H}, 3\text{-H}}$ 15,5 Гц, $J_{5\text{-H}, 6\text{-H}}$ 5,8 Гц соответственно), а дублет в области метильных протонов (δ 1,07 м. д., CH_3 при C_4) превращается в синглет. При облучении 6-Н (δ 1,58 м. д.) сливается в синглет-дублетный сигнал протонов геминальных метильных групп (δ 0,92 м. д. J 6,4 Гц), а триплет 5-Н становится дублетом. Таким образом, результаты ПМДР однозначно подтверждают для кислоты структуру 4,6-диметил-5-окси-гексен-2(*транс*)-овой кислоты.

Интересно отметить, что в масс-спектре кислоты не был обнаружен пик молекулярного иона. Фрагментация показала наличие ионов с m/e 100, 82, 73, 55, 45, 43:



С целью получения более летучего производного был приготовлен метиловый эфир кислоты, ИК-спектр которого показал наличие сложноэфирной связи (полоса при 1720 см^{-1}) и подтвердил присутствие спиртовой ОН-группы. Полоса последней отчетливо видна в ИК-спектре при 3500 см^{-1} после исчезновения поглощения гидроксила карбоксильной группы (рис. 1, 2). Однако в масс-спектре метилового эфира кислоты также не был обнаружен пик молекулярного иона, но наблюдались пики с m/e 114; 82, 73, 55, 45, 43.

Метиловый эфир кислоты был восстановлен водородом над Pd на угле в результате чего был получен метиловый эфир насыщенной кислоты,

в ИК-спектре которого отсутствует полоса C=C-связи при 1640 см^{-1} , а полоса сложноэфирной связи сдвигается на 30 см^{-1} в сторону больших частот (от 1720 до 1750 см^{-1}), что объясняется устранением влияния сопряженной двойной связи на карбонильную группу (рис. 1, 3).

Нами было отмечено, что выделенная кислота легко превращается в лактон под воздействием минеральных кислот. Так, при более жестком кислотном гидролизе антибиотика (6 н. HCl, 100° , 18 ч) и его гексагидропроизводного были получены соответствующие γ -лактоны с характерным поглощением γ -лактонной связи в ИК-спектре при 1760 см^{-1} .

Как известно [2, 3], полученная нами неопределенная оксикислота является фрагментом молекулы описанных ранее антибиотиков остреогрицинов-стрептограмминов. Однако ранее эта кислота не была выделена в свободной форме, а получалась только в виде лактонов.

На основании физико-химических свойств, элементного состава и присутствия в гидролизатах мадумидина вышеуказанной кислоты и аланина [1], выделенный нами антибиотик может быть отнесен к остреогрициновой-стрептограмминовой группе.

Экспериментальная часть

Спектры ПМР сняты на спектрометре ЯМР «Hitachi R 20 A» (60 МГц) (Япония). В качестве внутреннего эталона использовали тетраметилсилан. Точность измерения химических сдвигов $\pm 0,01$ м. д., констант спин-спинового взаимодействия $\pm 0,1$ Гц.

Масс-спектры получены на приборе LKB-9000 (Швеция) при энергии ионизирующих электронов 12 и 70 эВ и температуре ионного источника 270° . Молекулярный вес определяли методом измерения упругости пара на приборе «Perkin-Elmer» (США).

Гидролиз антибиотика. 3 г мадумидина растворяли в 100 мл смеси ледяной CH_3COOH и 1 н. HCl (1 : 3) и нагревали на кипящей водяной бане в течение 7 ч, после чего гидролизат разбавляли дистиллированной водой в 10 раз и экстрагировали многократно хлороформом. Хлороформный экстракт упаривали в вакууме, получали маслянистый остаток.

Очистка 4,6-диметил-5-оксигептен-2(транс)-овой кислоты. Маслянистый остаток, содержащий кислоту и примеси, очищали последовательно на колонках с кремневой кислотой марки «водная» в системах хлороформ — гексан (7 : 3), хлороформ — бензол (3 : 7) и хлороформ — метанол (99 : 1). Состав фракций контролировали хроматографией на силуфол в системе хлороформ — метанол, 9 : 1 (А). Продукт обнаруживали погружением пластинки в 1%-ный раствор KMnO_4 или раствор бромфенолового синего. Получали хроматографически однородный продукт, который кристаллизовали из хлороформа; т. пл. 92° , R_f в системе А 0,28, $\lambda_{\text{макс}}$ 228 ($E_{1\text{см}}^{1\%}$ 224) в метаноле.

Найдено, %: С 62,85; Н 9,29; N отсутствует. $M \sim 180$.

Вычислено для $\text{C}_9\text{H}_{16}\text{O}_3$, %: С 62,79; Н 9,29.

Метилловый эфир 4,6-диметил-5-оксигептен-2(транс)-овой кислоты. Кислоту (50 мг) растворяли в 20 мл этилового эфира и добавляли избыток свежеприготовленного диазометана в этиловом эфире. После выдерживания в течение 3 ч при комнатной температуре растворитель удаляли упариванием в вакууме. Полученный продукт при хроматографии на силуфол в системе А или R_f 0,73. Выход количественный.

Гидрированный метилловый эфир 4,6-диметил-5-оксигептен-2(транс)-овой кислоты. Метилловый эфир кислоты (20 мг) гидрировали над Pd/C в этаноле до исчезновения полосы C=C связи при 1640 см^{-1} в ИК-спектре (10 ч). Полученное соединение при хроматографии на силуфол в системе А, имело R_f 0,9. Выход количественный.

ЛИТЕРАТУРА

1. Бражникова М. Г., Кудинова М. К., Аникеева Н. М., Потапова Н. П., Розынов Б. В. (1974) *Антибиотики*, 9, 778—780.
2. Charney J., Fisher W. P., Curran Ch., Machlowitz R. A., Tytell A. A. (1953) *Antibiotics and Chemotherapy*, 12, 1283—1286.
3. Depierre G. R., Eastwood F. W., Gream G. E., Kingston Dg. I., Sarin P. S., Lord Todd A. R., Williams D. H. (1966) *J. Chem. Soc.*, 1653—1669.

Поступило в редакцию
4.III.1975 г.

THE STRUCTURE OF HYDROXY ACID ISOLATED FROM ANTIBIOTIC MADUMYCIN

KUDINOVA M. K., POTAPOVA N. R., ANIKEEVA N. M.,
BRAZHNIKOVA M. G., PHILIPPOVA T. M.*, ROSINOV B. V.**

*Institute of New Antibiotics, Academy of Medical Sciences
of the USSR, Moscow, *All-Union Institute for Vitamin
Research, **M.M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry,
Academy of Sciences of the USSR, Moscow*

An unsaturated hydroxy acid with empiric formula $C_9H_{16}O_3$ has been isolated in crystalline form from the hydrolysate of antibacterial antibiotic madumycin. Its structure has been established by spectral methods (IR, PMR and mass spectroscopy) as 4,6-dimethyl-5-hydroxy-2-*trans*-heptenoic acid.
