



УДК 577.182.54'17:615.277.3

**«ХИМЕРНЫЕ АНТИБИОТИКИ» — ДАУНОРУБИЦИН  
И ЕГО АНАЛОГИ, N-АЦИЛИРОВАННЫЕ БРУНЕОМИЦИНОМ  
(СТРЕПТОНИГРИНОМ)**

**Толстиков В. В., Козлова Н. В., Ярцева И. В.\*,  
Преображенская М. Н.**

*Всесоюзный научно-исследовательский институт по изысканию  
новых антибиотиков Академии медицинских наук СССР, Москва;*

*\* Всесоюзный онкологический научный центр  
Академии медицинских наук СССР, Москва*

Получены амиды антибиотика брунеомицина и антрациклиновых антибиотиков (даунорубицина, карминомицина и доксорубицина) с использованием в качестве конденсирующего агента  $N,N'$ -дициклогексилкарбодимид в присутствии  $N$ -гидроксисукцинимид. Эти «химерные» антибиотики значительно менее биологически активны, чем исходные вещества, что свидетельствует о стерических препятствиях в процессах рецепторного узнавания и ферментативного расщепления амидов в биологических системах *in vivo* и *in vitro*.

Недавно показано, что противоопухолевый антибиотик брунеомицин (стрептонигрин) (I) — высокоэффективный ингибитор обратной транскриптазы вируса СПИД [1]. Препятствием к применению антибиотика в качестве противовирусного средства является его высокая токсичность. Японскими исследователями был получен ряд производных брунеомицина по карбоксильной группе [2–4], в том числе и амидов с использованием хлорацетидрида антибиотика или с применением в качестве конденсирующего агента 3,3'-(фенилфосфорил)-бис(1,3-тиазолидин-2-тиона) [4]. Амид стрептонигрина, а также некоторые его производные оказались и менее токсичными, и менее активными, чем исходный антибиотик.

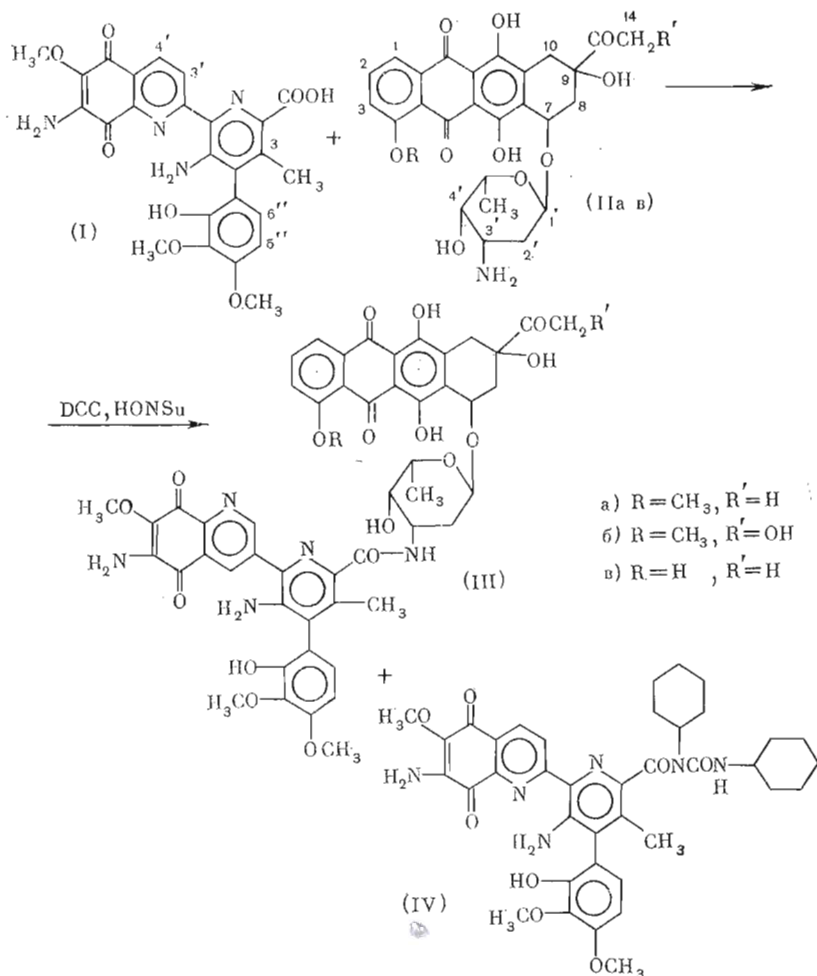
Задачей настоящего исследования было выяснить, целесообразно ли ацилировать остаток брунеомицина аминогруппу биологически важных соединений, рассчитывая на появление у полученных производных активности, обусловленной введенным фармакофором, или на последующее высвобождение брунеомицина в определенных органах или тканях. С этой целью мы получали амиды брунеомицина, используя в качестве аминоконпонента высокоактивные противоопухолевые антибиотики даунорубицин (IIa), доксорубицин (адриамицин) (IIб) и карминомицин (IIв). В качестве конденсирующего агента использовали  $N,N'$ -дициклогексилкарбодимид [5]. Конденсацию проводили при эквимолярном соотношении реагентов в смеси хлороформ — диоксан (2 : 1) при 20° С. Наряду с образованием целевых продуктов наблюдалось появление инертной  $N$ -ацилмочевины (IV). Это соединение было также получено при взаимодействии брунеомицина с  $N,N'$ -дициклогексилкарбодимидом. По-видимому, такое направление реакции обусловлено стерическими затруднениями, что подтверждается медленным течением реакции. Применение в качестве добавки эквимолярного количества  $N$ -гидроксисукцинимид позволило направить реакцию в нужном направлении образования амидной связи. По данным ТСХ, при 20° С время протекания реакции составляет 72 ч. Выделенные продукты реакции осуществлялись хроматографически. УФ-спектры полученных соединений представляют собой сумму спектров исходных веществ с небольшим гипохромным сдвигом максимумов поглощения при 375 и 494 нм, что позволяет предположить пространственное сближение двух фрагментов молекулы. В ИК-спектрах имеются характерные полосы поглощения амидной связи ( $\nu_{\text{CONH}}$  1640–1650  $\text{см}^{-1}$ ) и отсутствует полоса

Спектры <sup>1</sup>H-ЯМР изученных соединений (б, м.д. CDCl<sub>3</sub>)

Соединение	Протоны антрациклинового агликона										Протоны углеводного остатка				
	H-1	H-2	H-3	H-7	H-8a	H-8b	H-10a	H-10b	H-14	OMe	ОН	H-1'	H-2'a	H-2'б	H-3'
Даунорубин (IIa)	7,34	7,76	8,02	5,28 шс	2,35 дд	2,08 дд	3,21 д	2,96 д	2,41 с	4,07 с		5,50 шс	1,76 м	1,69 м	3,43 м
Брунеомидин (I)	-	-	-	-	-	-	-	-	-	-		-	-	-	-
(IIIa)	7,32	7,73	7,96	5,30	2,40	2,14 *	3,22	2,95	2,45	4,02	13,94; 13,12	5,60	2,08	1,92	4,35
(IIIб)	7,35	7,75	8,00	5,33	2,42	2,19	3,29	3,05	3,92	4,09	13,97; 13,25	5,60	2,09	1,95	4,30
(IIIв)	7,88	7,69	8,18	5,30	2,40	2,14 *	3,28	3,02	2,45	-	13,48; 12,92; 12,16	5,56	2,10	1,98 *	4,34
(IV)		3,54 (1 H, м);	2,48 (1 H, м);	1,87 (1 H, м);	1,75 (2 H);	1,58 (2 H);	1,58 (2 H);	1,58 (2 H);	1,30-0,90 (3 H, м);	1,30-0,90 (3 H, м);	1,58 (2 H);	5,89 (1 H);	5,07 (1 H)		

\* Сигналы перекрываются.

Соединение	Протоны углеводного остатка					Протоны остатка брунеомидина				
	H-4'	H-5'	H-6'	H-3'	H-4'	H-6''	H-3''	OMe	Me-3	NH
Даунорубин	3,48 с	4,09 м	1,34 д	-	-	-	-	-	-	-
Брунеомидин (DMSO-d <sub>6</sub> )	-	-	-	9,01 д	8,36 д	6,73 д	6,70 д	3,86; 3,88; 3,77	2,19 с	8,93; 6,86
(IIIa)	4,80	4,35	1,36	8,32	8,02	6,72	6,60	3,98; 3,88; 3,87	2,32	
(IIIб)	4,80	4,26	1,36	8,42	8,02	6,72	6,60	3,98; 3,92; 3,91	2,32	8,12; 6,72
(IIIв)	3,87	4,34	1,37	8,52	8,24	6,73	6,61	4,00; 3,98; 3,92	2,35	8,12; 6,22; 4,66
(IV)	-	-	-	8,86	8,38	6,81	6,65	4,08; 3,98; 3,94	2,08	



поглощения карбоксильной группы исходного брунеомицина ( $\nu_{\text{COOH}}$  1745  $\text{cm}^{-1}$ ). Спектры  $^1\text{H}$ -ЯМР соединений (IIIa–в), записанные в  $\text{CDCl}_3$ , содержат все определяющие элементы спектров как антрациклиновых антибиотиков, так и брунеомицина, причем совпадают положение и форма практически всех сигналов (таблица), за исключением сигналов Н-3', Н-2'а, Н-2'б и Н-5' даунозамина, которые претерпевают характерное при ацилировании слабopольное смещение. Оно наиболее выражено для сигнала Н-3' ( $\Delta\delta$  1,25 м.д.), что свидетельствует о месте замещения. Можно отметить также, что химические сдвиги сигналов Н-3' и Н-5' в производных (IIIa–в) часто совпадают. Учитывая данные интегрирования, из которых следует, что антрациклиновая и брунеомициновая единицы в каждом из соединений находятся в эквимолярном соотношении, это свойство рассматриваемых спектров свидетельствует в пользу образования единых молекул.

Строение полученных соединений подтверждают и некоторые частные особенности спектров, главным образом в антрациклиновой части. Так, в спектре соединения (IIIв) помимо двух слабopольных синглетов, образуемых фенольными гидроксильными группами ( $\delta$  13,48 и 12,92 м.д.), присутствует еще один ( $\delta$  12,56 м.д.) и одновременно отсутствует один из синглетов, соответствующих метоксильным группам. В спектре  $^1\text{H}$ -ЯМР соединения (IIIб) нет синглета при 2,40 м.д., соответствующего протонам метильной группы при С-14, и в то же время возрастает интенсивность сигнала при 3,92 м.д., что подтверждает присутствие в молекуле (IIIб) в этом положении оксиметильной группы.

При испытании в культуре клеток *Bacillus subtilis* синтезированные соединения (IIIa–в) и (IV) не проявили биологической активности.

«Химерные» антибиотики (IIIa–в) не токсичны для мышей в дозе 20 мг/кг, которая является дозой LD<sub>50</sub> для наименее токсичного из исходных веществ — даунорубина (IIa). Это говорит о том, что полученные амиды не расщепляются *in vivo* и *in vitro* в биологических системах и их взаимодействие с рецепторами затруднено.

Таким образом, дальнейшие исследования в этой области следует вести в направлении синтеза таких производных, где брунеомицин и вводимый фармакофор были бы разделены спейсером, что обеспечило бы возможность взаимодействия молекулы с рецептором или расщепление тем или иным образом в организме, необходимое для проявления биологического действия.

### Экспериментальная часть

ТСХ осуществлялась на пластинках Silufol UV-254 (ЧССР) в системе хлороформ — ацетон — метанол (8:1:1) (А). Препаративное разделение проводили на колонке с Kieselgel-60 (0,040–0,063 мм; Мерск, ФРГ). Температуры плавления определяли на Buchi SMP-20 (Швейцария). ИК-спектры регистрировали на спектрометре SP 1100 Pye-Uniscam (Англия). <sup>1</sup>H-ЯМР-спектры, получены на спектрометре Bruker-NW-360. УФ-спектры регистрировали на спектрофотометре UV-5260 Beckman (Австрия).

*Общая методика получения амидов (III).* К раствору 50,6 мг (0,1 ммоль) антибиотика (I) в 10 мл смеси хлороформа и диоксана (2:1) прибавляли при 20°С 0,1 ммоль соответствующего амина (IIa–в) и 11,5 мг (0,1 ммоль) N-гидроксиsuccинида. После растворения компонентов прибавляли раствор 20,6 мг (0,1 ммоль) N,N'-дихлорогексилкарбодиида в 5 мл хлороформа. Реакционную смесь перемешивали 72 ч при 20°С. Осадок мочевины отделяли, растворитель удаляли в вакууме. Остаток растворили в 50 мл хлороформа и промывали (3×10 мл) водой. Органический слой высушивали Na<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> и упаривали. Остаток разделяли на колонке с силикагелем (1×30 см) в хлороформе. Продукт элюировали 2% метанола в хлороформе. Высушивали в вакууме. Получали:

Соединение (IIIa), выход 65%; т.пл. 198–200°С; R<sub>f</sub> 0,42 (А); ИК-спектр (KBr, ν, см<sup>-1</sup>): 3500–3350 (NH, OH), 2950, 2880 (CH), 1650, 1620 (CO), 1590 (Ar); УФ-спектр (λ<sub>max</sub>, нм, MeOH): 490, 460, 375, 290. Найдено, %: C 55,88; H 4,46; N 6,05. C<sub>52</sub>H<sub>49</sub>N<sub>5</sub>O<sub>17</sub>·CHCl<sub>3</sub>. Вычислено, %: C 56,06; H 4,44; N 6,16.

Соединение (IIIб), выход 69%; т.пл. 213–214°С; R<sub>f</sub> 0,43 (А); ИК-спектр (KBr, ν, см<sup>-1</sup>): 3500–3300 (NH, OH), 2960, 2880 (CH), 1650, 1625 (CO), 1590 (Ar); УФ-спектр (λ<sub>max</sub>, нм, MeOH): 495, 470, 375, 285. Найдено, %: C 55,34; H 4,39; N 5,94. C<sub>52</sub>H<sub>49</sub>N<sub>5</sub>O<sub>18</sub>·CHCl<sub>3</sub>. Вычислено, %: C 55,29; H 4,35; N 6,08.

Соединение (IIIв), выход 67%, т.пл. 199–202°С; R<sub>f</sub> 0,65 (А); ИК-спектр (KBr, ν, см<sup>-1</sup>): 3510–3300 (NH, OH), 2950, 2880 (CH), 1640, 1620 (CO), 1595 (Ar); УФ-спектр (λ<sub>max</sub>, нм, MeOH): 494, 470, 375, 290. Найдено, %: C 56,36; H 4,41; N 6,23. C<sub>51</sub>H<sub>47</sub>N<sub>5</sub>O<sub>17</sub>·CHCl<sub>3</sub>. Вычислено, %: C 56,58; H 4,31; N 6,11.

*N-Брунеомицинил-N,N'-дихлорогексилмочевина (IV).* К раствору 50,6 мг (0,1 ммоль) соединения (I) в 10 мл смеси хлороформа и диоксана (2:1) при 20°С прибавляли 20,6 мг (0,1 ммоль) N,N'-дихлорогексилкарбодиида. Перемешивали 72 ч при 20°С. Растворитель удаляли в вакууме. Остаток очищали на колонке с силикагелем. Продукт элюировали хлороформом. Растворитель упаривали, остаток сушили в вакууме. Получали 48,5 мг (70%) вещества (IV), т.пл. 146–148°С; R<sub>f</sub> 0,85 (А); ИК-спектр (KBr, ν, см<sup>-1</sup>): 3500–3300 (NH, OH), 3000–2850 (CH), 1640, 1625 (CO), 1590 (Ar). Найдено, %: N 6,81. C<sub>38</sub>H<sub>44</sub>N<sub>4</sub>O<sub>8</sub>·CHCl<sub>3</sub>. Вычислено, %: N 6,97.

### ЛИТЕРАТУРА

1. Inouye T., Take Y., Nakamura Sh. // J. Antibiotics. 1987. V. 1. P. 100–105.
2. Boger D. L., Yasuda M. et al. // J. Med. Chem. 1987. V. 30. P. 1918–1928.
3. Inouye Y., Okada H. et al. // J. Antibiotics. 1987. V. 10. P. 1429–1432.
4. Hibino S., Inouye Y., Nakamura Sh. // J. Chem. Soc. Perkin Trans. I. 1986. V. 3. P. 479–485.
5. Гросс Э., Майенхофер И. Пептиды. М.: Мир, 1983. С. 246–267.

Поступила в редакцию 18.VII.1988

### «CHIMERIC» ANTIBIOTICS, DAUNORUBICIN AND ITS ANALOGUES N-ACYLATED WITH BRUNEOMYCIN (STREPTONIGRIN)

TOLSTIKOV V. V., KOZLOVA N. V., YARTSEVA I. V.\*, PREOBRAZHENSKAYA M. N.

*Institute of New Antibiotics; \* All-Union Cancer Research Centre,  
Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow*

Anthracycline antibiotics (daunorubicin, carminomycin and doxorubicin) N-acylated with antibiotic bruneomycin (streptonigrin) have been obtained from the parent compounds upon treatment with N, N'-dicyclohexylcarbodiimide and N-hydroxysuccinimide. These «chimeric» antibiotics are less active both *in vitro* and *in vivo* than the parent antibiotics. This demonstrates the stability of the intermolecular amide linkage in these compounds towards chemical and enzymatic hydrolysis as well as their inability to interact with corresponding receptors in contrast to less hindered derivatives of the parent antibiotics.