



УДК 577.182.99.088

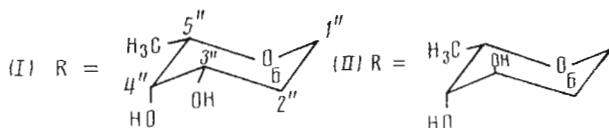
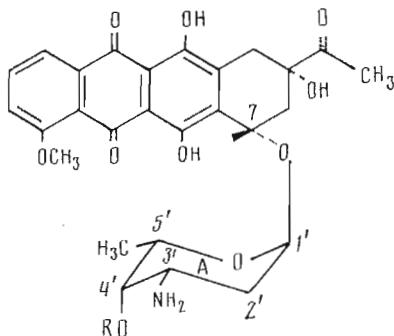
© 1991 г.

В. Б. Збарский, Э. И. Лажко, Н. П. Потапова,
Е. В. Фомичева, Т. П. Сабурова

РУБОМИЦИНЫ М И N — НОВЫЕ АНТРАЦИКЛИНОВЫЕ
АНТИБИОТИКИ

ВНИИ по изысканию новых антибиотиков АМН СССР. Москва

В процессе изучения компонентного состава рубомицинового комплекса, образуемого культурой мутантного штамма *Streptomyces coeruleorubidus*, var. 2679, были получены в индивидуальном, хроматографически чистом виде 17 компонентов. 10 из них были идентичны ранее известным антрациклинам: дауномицинону, бисангидродауномицинону, 13-дигидродауномицину, 7-дезоксидигидродауномицинону, ε-родомицинону, 13-дигидродауномицинону, баумицинам А, В1, В2 и С [1, 2]. Наряду с известными веществами был выделен и ряд новых антрациклинов, в том числе два антибиотика, названные нами рубомицинами М (I) и N (II).



Комплексный препарат получали из мицелия продуцента экстракцией ацетоном. Компоненты выделяли из комплексного препарата методом ТСХ на пластинках (20×20 см) с незакрепленным силикагелем 60 HR (Merck) с толщиной слоя 0,5 мм в системе А. Содержание рубомицинов М и N в комплексе соответственно 2 и 1%.

Рубомицины М и N, согласно данным FAB-масс-спектрометрии, имеют одинаковую молекулярную массу $m/z=657 (M+N)^+$, что соответствует формуле $C_{33}H_{39}O_{13}N$. Их УФ-спектры (MeOH) аналогичны: λ_{max} 252, 287, 480, 495 нм. Также аналогичны ИК-спектры (KBr): 3400, 1720, 1625, 1585 cm^{-1} . Соединения имеют несколько различающиеся хроматографические подвижности (табл. 1).

Строение рубомицинов М и N установлено с помощью ЯМР-спектроскопии (спектрометр VXR-400 Varian). Отнесение сигналов в протонном спектре проведено с помощью гомоядерной корреляции химических сдви-

Хроматографическая подвижность (R_f) рубомицинов М и N на силикагеле Merck 60HR *

Компонент	А	Б	В
Рубомицин М	0,12	0,09	0,070
Рубомицин N	0,10	0,08	0,065
Дауномицин	0,07	0,06	0,060

* Системы растворителей: хлороформ — бензол — метанол, 7 : 3 : 3 (А), хлороформ — метанол, 10 : 1 (Б), хлороформ — бензол — метанол, 20 : 2 : 3 (В).

Таблица 2

Параметры спектров ^1H -ЯМР (400 МГц, CDCl_3) углеводных фрагментов рубомицинов М и N *

Приведены δ , м. д., в скобках — КССВ, Гц

Протон	Рубомицин М	Рубомицин N
Остаток А		
H-1'	5,52 ($J_{1,2a}$ 3,7, $J_{1,2e}$ 2,0)	5,49 ($J_{1,2a}$ 2,8, $J_{1,2e}$ 2,8)
H-2'e	1,71 ($J_{2e,2a}$ 13,2, $J_{2e,3}$ 5,4)	**
H-2'a	1,75 ($J_{2a,3}$ 12,1)	**
H-3'	3,05 ($J_{3,4}$ 2,0)	3,09 ($J_{2a,3}$ 9,8, $J_{3,2e}$ 6,8)
H-4'	3,53 ($J_{4,5} < 1$)	3,56 ($J_{4,5} < 1$)
H-5'	4,09 ($J_{5,Me}$ 6,5)	4,11 ($J_{5,Me}$ 6,5)
Me-5'	1,28	1,28
Остаток Б		
H-1''	4,98 ($J_{1,2e} < 1$, $J_{1,2a}$ 3,6)	5,00 ($J_{1,2e}$ 3,6, $J_{1,2a}$ 2,0)
H-2'e	2,08 ($J_{2e,2a}$ 12,2, $J_{2e,3}$ 5,4)	2,22 ($J_{2e,2a}$ 14,6, $J_{2e,3}$ 3,6)
H-2'a	1,89 ($J_{2a,3}$ 12,2)	1,98 ($J_{2a,3}$ 3,3)
H-3''	4,14 ($J_{3,4}$ 3,1)	3,96 ($J_{3,4}$ 3,6)
H-4''	3,69 ($J_{4,5}$ 0,8)	3,54 ($J_{4,5}$ 1,4)
H-5''	4,20 ($J_{5,Me}$ 6,6)	4,55 ($J_{5,Me}$ 6,7)
Me-5''	1,27	1,23

* Химические сдвиги протонов приведены относительно Me_4Si .

** Сигналы протонов H-2'a и H-2'e наблюдаются в области 1,72 м. д. в виде плохо разрешенного мультиплета.

гов ^1H (COSY) [3]. Сигналы в спектре ^{13}C -ЯМР отнесены с использованием гетероядерной корреляции химических сдвигов ^{13}C , ^1H через прямое спин-спиновое взаимодействие (HETCOR) [4].

В спектрах ^1H и ^{13}C рубомицинов М и N наблюдаются сигналы агликона и двух сахаров (табл. 2, 3). Химические сдвиги ^1H и ^{13}C и константы спин-спинового взаимодействия (КССВ) ^1H - ^1H агликона и одного из сахаров компонентов М и N соответствуют данным для дауномицина [5, 6]. Исключение составляет слабополюный сдвиг сигнала С-4 (остаток А), что, по-видимому, связано с присоединением по этому положению второго сахара (остаток Б).

Последовательность соединения сахаров в исследованных нами соединениях определена с помощью селективного переноса поляризации протонов через дальние константы $J_{\text{H-C}}$ (INEPTL) [7]. Селективное облучение протона H-1 остатка А приводит к появлению в спектре INEPTL сигналов углеродов С-7, С-5', С-3' и С-2'.

В спектре ^1H -ЯМР второго сахара наблюдаются сигналы аномерного протона H-1'', метиленовых протонов H-2'', протонов H-3'', H-4'', H-5'' и метильной группы в положении 5'' (табл. 2).

Химические сдвиги ^{13}C (100 МГц, CDCl_3) рубомицинов М и N *

Остаток	Углеродный атом	Рубомицин М	Рубомицин N	Остаток	Углеродный атом	Рубомицин М	Рубомицин N
А	C-1'	100,91	100,97	Б	C-1''	100,58	100,47
	C-2'	33,86	34,30		C-2''	32,84	30,53
	C-3'	46,63	46,52		C-3''	66,97	67,67
	C-4'	81,69	81,92		C-4''	70,96	70,75
	C-5'	68,10	67,92		C-5''	65,47	62,98
	Me-5'	17,45	17,68		Me-5''	16,87	16,30

* Химические сдвиги приведены относительно CDCl_3 (77,00 м.д.).

Таблица 4

Ингибирование рубомицином М и дауномицином пролиферации опухолевых клеток лейкоза мышей L 1210, В-лимфобластного лейкоза человека (Raji) и Т-лимфобластного лейкоза человека (Molt-4F) *

Компонент	L1210	Raji	Molt-4F
Рубомицин М	0,29±0,01	0,094±0,029	0,042±0,0004
Дауномицин	0,625±0,003	0,0099±0,006	0,0251±0,0009

* Приведена концентрация, вызывающая 50%-ное подавление пролиферации.

Химические сдвиги протонов Н-3'' (4,14 и 3,96 м.д.) и Н-4'' (3,69 и 3,54 м.д.) в рубомицинах М и N свидетельствуют о наличии ОН-групп в положениях 3 и 4 остатка Б. С этим согласуются химические сдвиги углеродов С-3'' (66,97 и 67,67 м.д.) и С-4'' (70,96 и 70,75 м.д.) в рубомицинах М и N соответственно (табл. 3). Сравнение констант спин-спинового взаимодействия $J_{2',3'}$ этих соединений (12,2 и 3,3 Гц, табл. 2) позволяет заключить, что в рубомицине М протон Н-3'' занимает аксиальное положение, а в рубомицине N — экваториальное. Геометрическое расположение заместителей в положениях 4 и 5 остатка Б одинаково для обоих соединений.

Совокупность этих данных позволяет предположить, что второй сахар в рубомицине М — 2-дезоксифукопираноза, а в рубомицине N — 2,6-дидезоксигулопираноза. На основании существующих представлений о путях биосинтеза антрациклиновых антибиотиков можно полагать, что оба углеводных фрагмента в рубомицинах М и N относятся к L-ряду [8].

Исходя из вышеизложенного, мы и предлагаем для рубомицинов М и N соответственно структуры (I) и (II).

Синтез соединения, идентичного рубомицину М, ранее описан в работе [9]. Однако данные спектров ^1H -ЯМР, приведенные для этого соединения, ограничиваются только указанием химических сдвигов и КССВ аномерных протонов.

Биологическая активность в отношении *Bacillus cereus* рубомицинов М и N равна 394 и 320 ед. соответственно по отношению к дауномицину (1000 ед. акт.). Цитостатическая активность рубомицина М исследовалась в Институте медицинских исследований REGA Католического университета Левен (Бельгия) проф. Э. де Клерком и д. Я. Бальзарини. Рубомицин М обладает цитостатическим действием, однако оно проявляется в более высокой концентрации, чем у дауномицина (табл. 4).

В то время как в ряду антрациклиновых антибиотиков, не являющихся производными дауномицина, имеются соединения, содержащие в углеводной части два и более последовательно соединенных моносахарида (например, аклациномицин), в ряду дауномицина таких соединений до сих пор не встречалось. Интересно, что 2-деокси-L-фукоза, входящая в состав ру-

бомицина М, является также компонентом ряда других антрациклинов — аклациномицина, циверубинов А и В, марселломицина [10], а углеводный компонент рубомицина N — 2,6-дидезокси-L-гулоза представляет собой новый моносахарид для группы антрациклинов.

Авторы благодарят проф. М. Н. Преображенскую за полезные дискуссии и интерес, проявленный к работе.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Takahashi Y., Naganawa H., Takeuci T. // *Antibiot. (Tokio)*. 1977. V. 30. № 7. P. 622–625.
2. Александрова Л. Г., Фомичева Е. В., Сабурова Т. П., Потапова Н. П., Рубашева Л. М., Федорова Г. Б., Бражникова М. Г. // Тезисы конференции «Вторичные метаболиты». Пущино-на-Оке, 1987. С. 88.
3. Vax A., Freeman R., Morris G. A. // *J. Magn. Res.* 1981. V. 42. № 1. P. 169–173.
4. Vax A. // *J. Magn. Res.* 1983. V. 53. № 3. P. 517–520.
5. Arcamone F., Cassinelli A., Franceschi G., Orezzi P. // *Tetrahedron Lett.* 1968. V. 30. P. 3353–3357.
6. Arnone A., Fronza G., Mondelli R., Vigevani A. // *Tetrahedron Lett.* 1976. V. 38. P. 3349–3350.
7. Vax A. // *J. Magn. Res.* 1984. V. 57. № 2. P. 314–318.
8. Oki T. *Anthracycline Antibiotics*. N. Y.: Acad. Press, 1982. P. 75–76.
9. Boivin J., Monneret C., Paris M. // *Tetrahedron*. 1981. V. 37. № 24. P. 4219–4228.
10. Remers W. A. *The Chemistry of Antitumor Antibiotics*. N. Y.: John Willey & Sons, 1978. P. 80–85

Поступило в редакцию
12.VII.1991

V. B. ZBARSKI, E. I. LAZHKO, N. P. POTAPOVA, E. V. FOMICHEVA,
T. P. SABUROVA

NEW ANTHRACYCLINE ANTIBIOTICS RUBOMYCIN M AND RUBOMYCIN N

Institute of New Antibiotics, Academy of Medical Sciences of the USSR, Moscow

Two new anthracycline antibiotics have been isolated in study of a rubomycin complex produced by the mutant strain *Streptomyces coeruleorubidus*, var. 2679. Both compounds are daunomycinone disaccharides, whose carbohydrate part is presented by daunoseamine glycosylated at 4'-position with 2-deoxyfucoopyranose (rubomycin M) or with 2,6-dideoxygulopyranose (rubomycin N).