



УДК 615.779.931

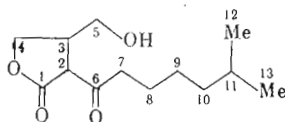
СТРОЕНИЕ А-ФАКТОРА — БИОРЕГУЛЯТОРА
ИЗ *STREPTOMYCES GRISEUS*

Клейнер Е. М., Плинер С. А., Сойфер В. С.,
Оноприенко В. В., Балашова Т. А., Розынов Б. В.,
Хохлов А. С.

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

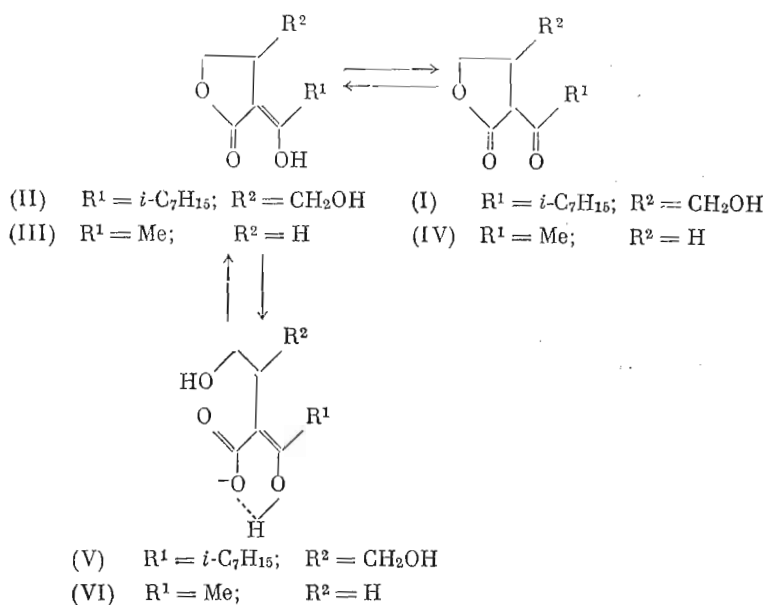
Как уже сообщалось ранее, А-фактор, обнаруженный нами у *Streptomyces griseus* (*Actinomyces streptomycini*), является биорегулятором, необходимым для нормального прохождения некоторых стадий развития актиномицета (в частности, спорообразования) и биосинтеза им стрептомицина [1—4]. Действие А-фактора на микробную клетку, по-видимому, связано с индуцированием ингибитора, специфически подавляющего один из ключевых ферментов углеводного обмена — глюкозо-6-фосфат-дегидрогеназу [5].

Ранее была описана очистка и первичная химическая характеристика А-фактора. Было показано, что он имеет эмпирическую формулу $C_{13}H_{22}O_4$ (M 242), содержит две группы CO , одну CH_2OH - и одну $CHMe_2$ -группировку и способен превращаться в диацильные и бис-триметилсилильные производные [6]. В настоящем сообщении приведены результаты химического изучения А-фактора, позволившие установить его структуру (I).



Это вещество является γ -лактоном и имеет в ИК-спектре полосу поглощения при 1770 см^{-1} . При мягком щелочном гидролизе (0,01 н. КОН в 50% спирте, 20°) А-фактор быстро поглощает 1 моль щелочи и образует соль кетокислоты (V) (схема 1), в ИК-спектре которой вместо полосы при 1770 см^{-1} появляется полоса ионизированного карбоксила (1575 см^{-1}), а вторая карбонильная полоса (1720 см^{-1}), наблюдаемая в ИК-спектре А-фактора, смещается у соли (V) до 1668 см^{-1} . При подкислении водного раствора этой соли быстро наступает лактонизация, приводящая к исходному

Схема 1

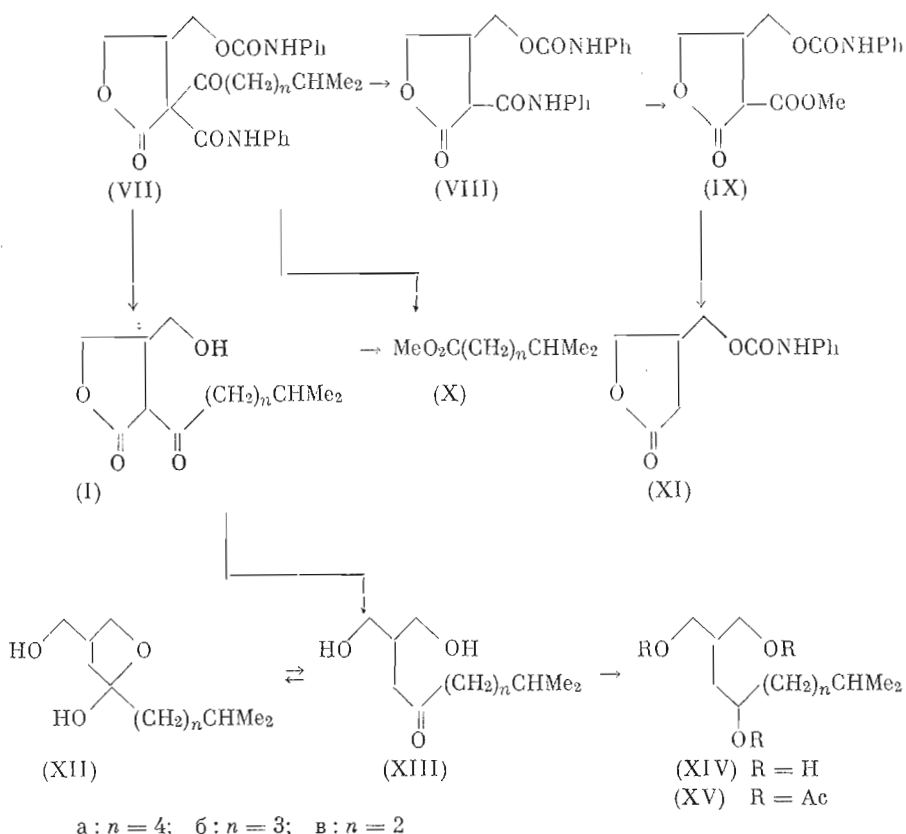


А-фактору. В УФ-спектре (MeOH) А-фактор обнаруживает концевую абсорбцию с тремя перегибами при 226, 250 и 277 нм (ϵ 3600, 2330, 1670), причем перегиб при 250 нм, очевидно, обусловлен присутствием енольной формы (II) [7]. В щелочном растворе (0,05 н. КОН в MeOH) анион кетокислоты (V) имеет $\lambda_{\text{макс}}$ 282 нм (ϵ 13 000), а тотчас после подкисления раствор обнаруживает $\lambda_{\text{макс}}$ 252 нм (ϵ 5500); поглощение при этой длине волны быстро падает и достигает обычной величины (ϵ 1800) уже через 0,5 ч. Модельный α -ацетил- γ -бутиролактон (III \rightleftharpoons IV) [8] также имеет $\lambda_{\text{макс}}^{\text{MeOH}}$ 253 нм, ϵ 1000, $\nu_{\text{макс}}^{\text{KBг}}$ 1770 и 1720 см^{-1} , легко и обратимо размыкается щелочами до α -оксиэтил- β -ацетоацетата (VI) (в 0,05 н. метанольном КОН $\lambda_{\text{макс}}$ 282 нм, ϵ 13 300).

Дальнейшее подтверждение β -кетолактонной структуры хромофора А-фактора было получено при изучении гидролитического расщепления А-фактора и его производных (схема 2). Среди продуктов «кислотного» расщепления (0,5 н. NaOH в 50% MeOH) после метилирования диазотаном с помощью ГЖХ — масс-спектрометрии был обнаружен метиловый эфир изокаприловой кислоты (Ха) наряду с небольшими количествами его гомологов — метиловых эфиров изоэнантовой (Хб) и изокапроновой (Хв) кислот (удерживаемый объем для гомологов Ха, Хб и Хв соответственно 0,81; 0,41 и 0,21 относительно гептилацетата). Следовательно, в выделенных образцах А-фактора, содержащего $\text{CO}(\text{CH}_2)_4 \text{CHMe}_2$ -группировку в β -положении к лактонному карбонилу, имеются примеси низших гомологов (Iб) и (Iв).

При «кетонном» расщеплении А-фактора (0,2 н. HCl) были получены кетодиолы (XIII); частично существующие в лактольной форме (XII); их восстановление борогидридом натрия приводит к триолам (XIV), охарактеризованным в виде ацетатов (XV): [$\nu_{\text{макс}}^{\text{в пленке}}$ 1740, 1240, 1040 см^{-1} ; ГЖХ — масс-спектры, m/e (соответственно для XVа, XVб и XVв): 241, 227, 213 ($M^+ - \text{AcOH} - \text{Ac}$), 181, 167, 153 ($M^+ - 2\text{AcOH} - \text{Ac}$), 224, 210, 196 ($M^+ - 2\text{AcOH}$), 164, 150, 136 ($M^+ - 3\text{AcOH}$)]. Спектр ^1H -ЯМР ацетата триола (XVa) [$\delta_{\text{TMS}}^{\text{CCl}_4}$ 0,86 (6H, дублет, J 6,5 Гц, CHMe_2), 1—1,7 (12 H, мультиплет, 2CH, 5CH₂), 2,0 (9H, синглет, AcO), 3,96 (2H, дублет, J 5,5 Гц, CH_2OAc), 4,02 (2H, дублет, J 5,5 Гц, CH_2OAc), 4,93 (1H, квар-

Схема 2



тет, J 5,5 Гц, CHOAc м. д.] показывает, что группа CH_2OH , имеющаяся в А-факторе, расположена у 3-С.

Из приведенных выше данных следует, что А-фактор имеет структурную формулу (Iа). Этот вывод дополнительно подтвержден при изучении свойств дикарбанилата А-фактора (VII) и продуктов его кислотного метанолиза. При метанолизе соединения (VII) (0,1 н. HCl) наряду с метиловыми эфирами гомологичных жирных кислот (X) (преобладает высший гомолог (Xа), низшие гомологи (Xб) и (Xв) присутствуют в виде примеси) были выделены вещества (VIII) и (IX). Эфир (IX), очевидно, продукт дальнейшего метанолиза анилида (VIII), так как может быть получен из него в более жестких условиях (1н. HCl в MeOH). Эфир (IX) при кислотном гидролизе (0,2 н. HCl) превращается в соединение (XI). Соединения (VIII), (IX) и (XI) являются γ -лактонами, так как в их ИК-спектрах присутствует полоса поглощения при $1770\text{--}1780\text{ см}^{-1}$ и они способны, как и А-фактор, обратимо размыкаться 0,01 н. щелочью. Взаимное расположение CH_2OH и лактонной групп было подтверждено путем изучения спектров ^1H -ЯМР соединений (VII)—(IX) и (XI) (табл. 1). Как видно из представленных данных, эти вещества имеют по 4 протона, расположенных у С-атомов, при которых находятся ацилосигруппы. Исследование методом INDOR показало, что эти протоны входят, в случае дикарбанилата (VII), в состав двух систем АВХ с общей Х-частью, а в соединениях (VIII), (IX) и (XI) одна из этих систем вырождается в систему A_2X . Другие физико-химические характеристики лактонов (VIII), (IX) и (XI) представлены в табл. 1 и 2 (структура соединения (XI) подтверждена встречным синтезом).

Данные спектров ¹H-ЯМР γ-бутиролактонов (VII)–(IX) и (XI)

Соединение	Растворитель	δ, м.д. (J _{геом} , Гц)										J _{виц.} Гц
		2-СН _т	3-СН	4-СН ₂	5-СН ₂	NH	C _α H ₅	COOMe	СН(Мe) ₂	(СН ₂) _т СН	7-СН ₂ СО	
(VII)	CDCl ₃	—	3,53	4,35; 4,55 (9,4)	4,49; 4,65 (11,4)	6,70; 9,48	7,0–7,7	—	0,79	1,0–1,8	2,73	J _{4,3} 10,0; 8,5 J _{5,3} 7,0; 4,2 J _{11,12(13)} 6,5
(VII)	CDCl ₃ : (CD ₃) ₂ CO (2:1)	—	3,53	4,35; 4,58 (9,3)	4,49; 4,60 (11,4)	8,22; 9,46	7,0–7,8	—	0,79	1,0–1,8	2,78	J _{4,3} 9,3; 8,0 J _{5,3} 6,8; 4,3 J _{11,12(13)} 6,5
(VIII)	(CD ₃) ₂ CO	3,78 ^{1*}	3,53	4,25; 4,61 (8,9)	4,38	8,75; 9,52	6,9–7,8	—	—	—	—	J _{2,3} 7,9 J _{4,3} 7,2; 8,3 J _{5,3} 5,3 ^{3*}
(IX)	CDCl ₃	3,58 ^{1*}	3,53	~4,2; 4,5 (9,0)	4,27	7,6	6,8–7,5	3,8	—	—	—	J _{2,3} 7,5 J _{4,3} ~8,0 ^{4*} J _{5,3} 4,5
(XI)	CDCl ₃	2,40 : 2,65 (17,5) ^{2*}	2,90	4,14; 4,4 (9,0)	4,23	6,74	7,0–7,4	—	—	—	—	J _{2,3} 8,3; 6,0 J _{4,3} 4,0; 7,2 J _{5,3} 5,3

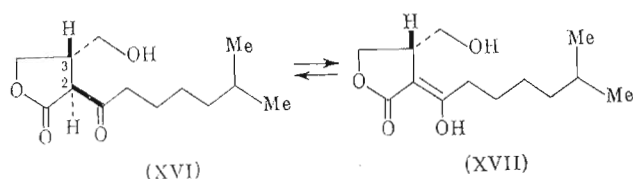
^{1*} *m* = 1. ^{2*} *m* = 2. ^{3*} Усредненная константа. ^{4*} Одну из констант, J_{4,3}, определить не удалось.

Данные масс-спектров γ -бутиролактонов (VIII), (IX) и (XI)

Ионы	Соединение (VIII)		Соединение (IX)		Соединение (XI)	
	<i>m/e</i>	эмпирическая формула *	<i>m/e</i>	эмпирическая формула *	<i>m/e</i>	эмпирическая формула *
M^+	354	$C_{19}H_{18}O_6N_2$	293	$C_{14}H_{15}O_6N$	235	$C_{12}H_{13}O_4N$
$M^+ - PhNHCOOH$	217	$C_{12}H_{11}O_3N$	156	$C_7H_5O_4$	98	$C_5H_6O_2$
$M^+ - PhNHCOOH - PhNCO$	98	—	—	—	—	—
$M^+ - PhNHCOOH - CH_3O$	—	—	125	$C_6H_5O_3$	—	—
$M^+ - PhNHCOOCH_2$	204	$C_{11}H_{10}O_3N$	143	$C_6H_7O_4$	85	$C_4H_6O_2$
$M^+ - PhNHCOOCH_2 - PhNCO$	85	$C_4H_5O_2$	—	—	—	—
$M^+ - PhNHCOOCH_2 - CH_3O$	—	—	112	—	—	—
$M^+ - PhNHCOOH - CH_3O$	186	$C_{11}H_8O_2N$	—	—	—	—
или $M^+ - PhNHCOOCH_2 - H_2O$	—	—	—	—	—	—
$M^+ - PhNCO$	235	$C_{12}H_{13}O_4N$	—	—	—	—
$M^+ - CH_3O$	—	—	262	$C_{13}H_{12}O_5N$	—	—
$M^+ - PhNCO - PhNCO$	116	—	—	—	—	—
$M^+ - CH_3O - PhNCO$	—	—	143	$C_6H_7O_4$	—	—

* Определена высокоразрешающей масс-спектрометрией.

A-фактор содержит в своей молекуле два асимметрических центра — 2-С и 3-С. В его спектре КД проявляются два положительных эффекта Коттона — при 285 ($\Delta\epsilon + 0,349$) и при 225 нм ($\Delta\epsilon + 0,215$). Второй из них, по-видимому, связан с $n \rightarrow \pi^*$ -переходом лактонного хромофора, и в соответствии с секторным лактонным правилом [9, 10] знак этого эффекта должен быть обусловлен главным образом *R*-конфигурацией заместителя при 3-С. Что касается ориентации ацильного заместителя, то вследствие легкой эимеризуемости центра 2-С в растворе должен преобладать термодинамически более устойчивый *транс*-изомер (XVI) наряду с енольной формой (XVII). Следовательно, A-фактор имеет пространственное строение 2*S*-изокаприлоил-3*R*-оксиметил- γ -бутиролактона (XVI).



Авторы благодарят С. Л. Портнову и Л. Б. Сенявину за помощь в интерпретации спектральных данных.

ЛИТЕРАТУРА

1. Хохлов А. С., Товарова И. И., Борисова Л. Н., Плинер С. А., Шевченко Л. А., Корницкая Е. Я., Ивкина Н. С., Рапопорт И. А. (1967) Докл. АН СССР, 177, 232—235.
2. Товарова И. И., Корницкая Е. Я., Плинер С. А., Шевченко Л. А., Анисова Л. Н., Хохлов А. С. (1970) Изв. АН СССР. Сер. биол., 427—434.

3. Борисова Л. Н., Ивкина Н. С., Гоменюк Л. А. (1970) Докл. АН СССР, **192**, 199—202.
4. Khokhlov A. S., Anisova L. N., Tovarova I. I., Kleiner E. M., Kovalenko I. V., Krasilnikova O. I., Kornitskaja E. Ya., Pliner S. A. (1973) Z. allg. Mikrobiol., **13**, 647—655.
5. Воронина О. И., Товарова И. И., Хохлов А. С. (1975) Биоорган. химия, **1**, 285—290.
6. Плинер С. А., Клейнер Е. М., Корницкая Е. Я., Товарова И. И., Розынов Б. В., Смирнова Г. М., Хохлов А. С. (1975) Биоорган. химия, **1**, 70—76.
7. Штерн Э., Тиммонс К. (1974) Электронная абсорбционная спектроскопия в органической химии, с. 263, «Мир», М.
8. Препаративная органическая химия (1959), с. 625, ГХИ, М.
9. Jenning J. P., Klyne W., Scopes P. M. (1965) J. Chem. Soc., 7211—7229.
10. Jennings J. P., Klyne W., Scopes P. M. (1965) J. Chem. Soc., 7229—7237.

Поступила в редакцию
8.IV.1976