



УДК 615.779.931

СТРУКТУРА АГЛИКОНА АРОМАТИЧЕСКОГО ГЕПТАЕНОВОГО
АНТИБИОТИКА ФЛАВУМИЦИНА А

Шенин Ю. Д., Кругликова Л. Ф.

Всесоюзный научно-исследовательский технологический институт
антибиотиков и ферментов, Ленинград

В результате изучения продуктов химической деградации противогрибкового гептаенового антибиотика флавумицина А для его агликона предложена структура 1,39-лактона 3,5,7,10,12,14,16,18,22,39-деаокси-8-(1'-оксипентил)-23-метил-41-(*n*-аминофенил)-20,41-дикетогептетрактона-24,26,28,20,32,34,36-гептаен-1,21-дикарбоновой кислоты (I).

Гептаеновый макролидный антифунгальный антибиотик флавумицин А был выделен из культуры *Actinomyces flavus var. septenicus* [1]. Антибиотик был отнесен к группе ароматических гептаенов. Показано, что он содержит в своем составе аминосакхар — микозамин и ароматический фрагмент — остаток *n*-аминоацетофенона [2].

Настоящая работа посвящена установлению химического строения агликона антибиотика.

Структура углеродного скелета антибиотика была доказана исчерпывающим восстановлением всех его кислородных функций по методу [3] (последовательность реакций восстановления приведена на схеме 1) и анализом масс-спектра полученного углеводорода (II). В масс-спектре наблюдается молекулярный ион с m/e 756, отвечающий эмпирической формуле $C_{54}H_{108}$. Этот углеводород имеет строение 21,23-диметил-8-пентил-41-циклогексилгептетрактонана (II), что следует из величин m/e преобладающих ионов в масс-спектре, обусловленных α -распадом по имеющимся разветвлениям (см. схему распада в табл. 1).

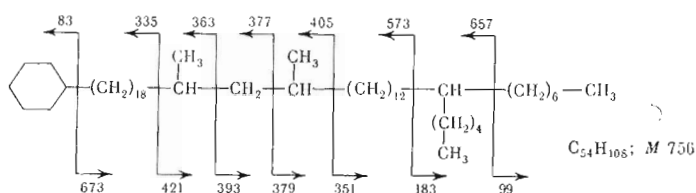
Строение насыщенной части молекулы антибиотика было подтверждено анализом масс-спектра другого углеводорода (III), полученного в результате исчерпывающего восстановления одного из продуктов озонлиза антибиотика.

Молекулярный ион с m/e 436 отвечает составу $C_{31}H_{64}$. Из данных, суммированных в схеме распада, приведенной в табл. 2, следует, что углеводород (III) имеет строение 2,4-диметил-17-пентилтетрактозана.

С другой стороны, после гидрирования смеси продуктов озонлиза флавумицина А при 200° и 200 атм в присутствии палладия были выделены углеводороды $C_{30}H_{62}$ (IV), $C_{25}H_{52}$ (V) и $C_{11}H_{22}$ (VI), кетон $C_{30}H_{60}O$ (VII) и смесь 2,6-замещенных тетрагидропиранов $C_{30}H_{58}O_2$ (VIII) — (XII).

Анализ фрагментации углеводорода (IV) (табл. 3) и сравнение с фрагментацией углеводорода (III) (табл. 2) позволяют говорить о том, что в углеводороде (IV) отсутствует метильная группа у C_4 . Известно, что в процессе высокотемпературного восстановления происходит реакция декар-

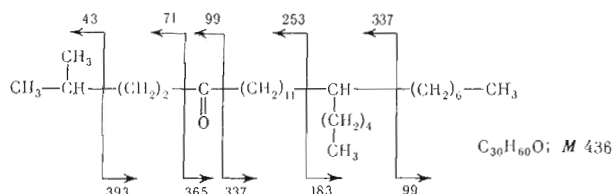
Интенсивность основных характеристических ионов в масс-спектре
21,23-диметил-8-пентил-41-циклогексилгентакозана (II)



Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %
41	39,2	139	9,6	393	15,2
43	64,0	141	12,0	405	8,8
55	32,0	155	8,8	421	11,2
57	76,0	169	7,2	435	3,2
69	24,8	183	28,8	559	7,2
71	44,0	197	4,8	573	1,6
83	100,0	211	4,0	643	3,2
85	51,4	225	3,2	657	4,8
97	65,6	321	4,0	671	1,6
99	60,0	335	12,0	699	1,6
111	40,0	351	24,0	713	5,6
113	21,6	363	5,6	727	1,6
125	25,6	377	7,2	741	3,2
127	16,8	379	19,2	756	12,0

Таблица 2

Интенсивность основных характеристических ионов в масс-спектре
2,4-диметил-17-пептилтетракозана (III)



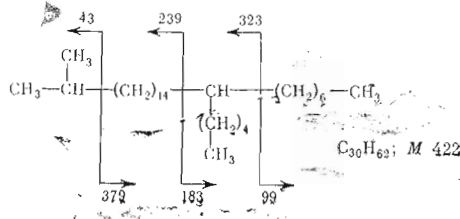
Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %
43	82,6	169	14,5	295	3,6
57	100,0	183	54,5	309	3,6
71	40,9	197	10,9	323	3,6
85	81,7	211	10,9	337	1,8
99	81,7	225	8,2	351	15,4
113	24,5	239	8,2	379	11,8
127	20,0	253	35,5	393	20,9
141	16,4	267	6,4	407	2,7
155	14,5	281	5,4	421	8,2
				436	3,6

бокислирования [4]. Следовательно, в молекуле флавуимицина А (I) карбоксильная группа находится у C_{21} .

Другой углеводород имеет строение 2-метилтетракозана (V). Его образование можно объяснить тем, что в процессе реакции наряду с реакцией декарбоксилирования произошло отщепление пентильного радикала. В масс-спектре этого продукта нет преобладающих ионов с m/e 99 и 183.

Таблица 3

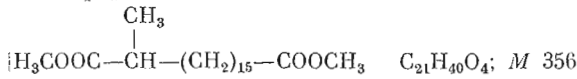
Интенсивность основных характеристических ионов в масс-спектре
2-метил-17-пентилтетракозана(IV)



Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %
43	95,3	169	6,7	295	1,0
57	97,1	183	48,0	309	1,0
71	66,7	197	5,7	323	1,7
85	24,8	211	2,1	337	0,7
99	100,0	225	1,7	351	0,6
113	20,9	239	1,5	365	0,6
127	11,4	253	1,3	379	2,8
141	8,5	267	1,4	393	0,4
155	7,6	281	1,2	422	1,0

Таблица 4

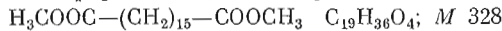
Интенсивность основных характеристических ионов в масс-спектре
диметилового эфира 2-метилоктадекандикарбоновой кислоты (XII)



Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %
72	82,4	115	40,0	199	14,1
73	21,2	126	37,7	213	3,5
74	100,0	129	18,8	227	11,8
83	35,3	140	23,6	241	21,2
84	82,4	143	11,8	255	8,2
88	53,0	154	35,3	269	7,0
98	94,1	157	18,2	283	17,7
99	59,7	168	17,7	297	7,0
101	31,8	171	20,0	312	8,2
112	76,5	185	14,1	325	47,0
				356	4,2

Таблица 5

Интенсивность основных характеристических ионов в масс-спектре
диметилового эфира гентадекандикарбоновой кислоты (XIV)



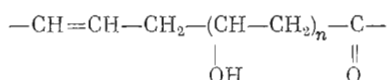
Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %
73	70,5	126	38,8	223	8,2
74	98,9	140	21,2	227	14,1
83	23,6	143	21,2	236	14,1
84	100,0	154	11,8	241	8,2
87	76,5	157	9,4	255	35,4
98	100,0	168	11,8	269	11,8
99	25,9	171	9,4	283	47,1
101	56,5	185	11,8	328	4,7
112	51,8	199	9,4		
115	62,4	213	8,2		

В масс-спектре последнего из углеводов кроме молекулярного иона ($M^+ 154$) имеются два преобладающих иона с m/e 71 и 83. Это позволяет приписать ему строение пентилциклогексана (VI). Образование углевода (VI) подтверждает локализацию двойных связей в антибиотике и свидетельствует об отсутствии разветвлений в пятиуглеродной части цепи, прилегающей к ароматическому кольцу.

Для выяснения локализации в структуре антибиотика гептаенового хромофора (фрагмент $C_{22} - C_{39}$) мы использовали метод окисления пергидропроизводного антибиотика азотной кислотой. В результате была выделена смесь жирных кислот, из которой после метилирования диазометаном были выделены два диметилвых эфира дикарбоновых кислот (XIII) и (XIV), строение которых установлено на основании данных масс-спектрометрии (табл. 4 и 5). Образование диэфира дикислоты (XIII)* позволяет утверждать, что с обеих сторон гептаенового хромофора в β -положениях находятся кислородные функции.

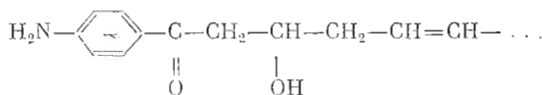
Чтобы установить характер этих кислородных функций, мы подвергли антибиотик ретроальдольному расщеплению при действии разбавленной щелочи. В результате был выделен непредельный диальдегид (XV), УФ-спектр которого ($\lambda_{\text{макс}} 425$ нм) свидетельствует о наличии октаеновой системы двойных связей, сопряженной с карбонильными группами [10]. Строение диальдегида (XV) было доказано следующим образом. Действие борогидрида натрия на образовавшийся непредельный диальдегид приводит к непредельному диолу (XVI) с УФ-спектром ($\lambda_{\text{макс}} 422, 397, 376$ нм), характерным для октаеновой системы сопряженных двойных связей. После его каталитического восстановления был выделен насыщенный диол (XVII). В его масс-спектре имеется интенсивный ион с m/e 296, отвечающий потере воды от молекулярного иона ($M^+ - 18$), а большая интенсивность иона $M^+ - 46$ по сравнению с ионом $M^+ - 60$ указывает на наличие метильного заместителя в положении 3 [11].

Возникновение дополнительной двойной связи при образовании диальдегида (XV) в результате щелочного ретроальдольного расщепления говорит о том, что в молекуле антибиотика имеется группировка



При этом может происходить или двойная ретроальдользация ($n = 2$) [12, 13], или прямое расщепление альдоля с одновременной дегидратацией ($n = 1$) [9].

Очевидно, что расщепление со стороны ароматического фрагмента обусловлено ретроальдользацией в группировке

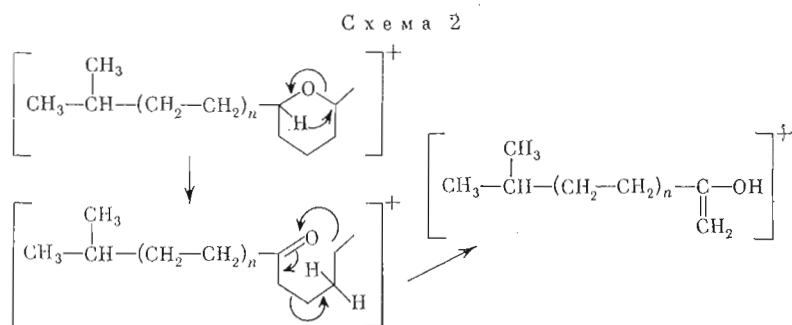


Вторая альдегидная группа в диальдегиде (XV) могла возникнуть под влиянием карбонильной группы в положении 18 либо 20 исходного антибиотика.

Выбор между этими возможностями был сделан при рассмотрении структуры кетона (VII), установленной на основании его масс-спектра (см. схему распадов в табл. 6). Строение кетона (VII) позволяет заключить, что кетогруппа в молекуле агликона антибиотика находится в положении 20.

* Ранее при окислении пергидропроизводных гептаеновых антибиотиков, как неароматических (амфотерицин В [5], микогептин [6], канвддин [7]), так и ароматических (антибиотики D1-400 В₁ и В₂ [8,9]), была выделена 2-метилгептадекандикарбоновая кислота.

Расположение восьми гидроксильных групп (в молекуле агликона (I)) было установлено в результате анализа масс-спектра смеси 2,6-дизамещенных тетрагидропиранов (VIII) — (XII), полученных при высокотемпературном гидрировании продуктов озонлиза. Судя по наибольшей величине m/e в спектре (M^+ 450), ни одно из этих соединений не может содержать более двух пирановых циклов в молекуле. Схемы основных путей распада всех пяти соединений (VIII) — (XII) приведены в табл. 7. Кроме того, в масс-спектре имеется серия четных пиков с m/e $114 + n \cdot 28$ ($n = 1, 2, 3, 4$), обусловленных перегруппировочными ионами, которые, очевидно, образуются по схеме, предложенной Цедером [14], и имеют большую интенсивность, чем соответствующие им фрагментные ионы (схема 2).

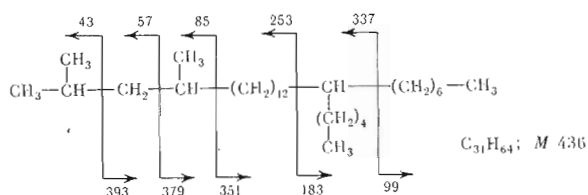


Из этих данных следует, что в агликоне молекулы флавумицина А гидроксильные группы находятся в положениях 3,7,10,12,14,16,18 и 22.

Поскольку в молекуле флавумицина А содержится 19 атомов кислорода, три из которых находятся в остатке микозамина, в агликоне (I) содержится еще две гидроксильные группы. Их положение было выяснено при анализе масс-спектра перметоксиполиола (XVIII), полученного в результате озонлиза антибиотика с последующим восстановлением и метилированием. В его масс-спектре имеется серия интенсивных пиков,

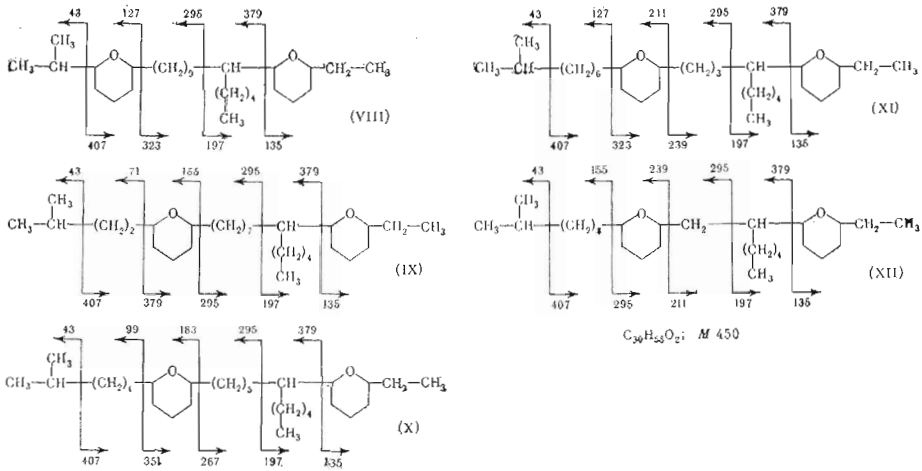
Таблица 6

Интенсивность основных характеристических ионов в масс-спектре 2-метил-17-пентилтетракозана-5 (VII)



Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %
43	66,7	114	41,6	351	3,3
57	41,6	127	14,2	360	7,5
58	33,3	141	11,7	365	14,2
71	83,5	155	10,0	380	11,6
72	27,6	169	8,3	393	19,2
85	29,2	183	21,7	407	3,3
86	14,2	207	6,6	421	3,3
99	100,0	241	5,8	436	15,0
100	53,4	323	2,5		
113	20,6	337	14,2		

Интенсивность основных характеристических ионов в масс-спектре смеси 2,6-замещенных тетрагидропиранов (VIII) — (XII)



Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %	Значение m/e	Относительная интенсивность, %
43	100,0	183	47,2	322	3,6
57	50,0	197	37,2	323	14,5
71	81,8	198	78,1	337	13,6
72	60,8	211	41,8	351	10,9
99	70,0	225	13,6	365	4,5
113	49,1	239	37,3	379	10,9
114	78,2	253	27,3	393	5,4
127	58,1	255	12,7	407	18,2
135	46,4	267	27,3	421	4,5
142	55,5	281	10,0	435	4,5
155	61,8	295	19,1	450	12,7
170	61,8	309	9,1		

чередующихся через 58 массовых единиц, которые свидетельствуют о наличии метоксигрупп в 1,3-положениях друг к другу. Кроме того, есть пики с m/e 117 и 161, указывающий на наличие метоксигруппы при C_5 , и пик M^+ — 57, позволяющий поместить последнюю метоксигруппу у C_1 .

На основании изложенных данных мы предлагаем для агликона ароматического гептаенового антибиотика флавуцицина А структуру 1,39-лактона 3,5,7,10,12,14,16,18,22,39-декаокси-8(1'-оксипентил)-23-метил-41-(*n*-аминофенил)-20,41-дикетогентетраконта-24,26,28,30,32,34,36-гептаен-1,21-дикарбоновой кислоты (I).

Антибиотик имеет 40-членный макроцикл, тогда как ранее изученные гептаены обладают 39-членным макроциклом. Кроме того, в отличие от других гептаеновых антибиотиков флавуцицина А содержит оксипентильное разветвление. α -Оксигексильное разветвление имеет ряд метилпентаенов [15], а α -оксипентильное — гексаеновый антибиотик гексамидин [16]. Однако если в случае метилпентаенов это разветвление находится при C_2 , а у гексамидина — при C_7 , то в нашем случае оно находится при C_8 . Отличительной особенностью флавуцицина А является и то, что у него гидроксильные группы находятся в β -положении к полиеновой системе, а не в α - и β -положениях, как у всех изученных до сих пор полиенов.

Экспериментальная часть

Масс-спектры записывали на масс-спектрометре МХ-1309 (СССР), снабженном системой прямого ввода образца в ионный источник, при температуре испарения 60° и ионизирующем напряжении 70 эВ (углеводород (III)) и на приборе ЛКВ-9000 при 50° (Швеция) (углеводороды (I), (II), (IV) и (V)) и энергии ионизации 70 эВ. Запись спектров на приборе ЛКВ-9000 проводилась с предварительной газовой хроматографией на колонке с 5% SE-30 на хромосорбе W.

1. *Восстановление флавумицина А* проводили по методу, описанному в [3]; из 2 г антибиотика (I) получено 12,5 мг углеводорода (II). В ИК-спектре присутствуют полосы поглощения при 2925, 2863, 1457, 1360, 725 см^{-1} .

2. *Продукты озонолиза. а). Выделение 2,4-диметил-17-пентилтетракозана (III)*. Суспензию 2,68 г антибиотика (I) в 110 мл метанола озонировали при -70° в течение 3 ч. После окончания реакции реакционную смесь медленно нагрели до комнатной температуры, добавили 0,25 г окиси платины и встряхивали 24 ч в атмосфере водорода. После отделения катализатора и удаления растворителя в остатке получили 1,87 г маслянистого продукта. Продукты озонолиза были далее переведены исчерпывающим восстановителем в углеводород. В результате получили 12 мг углеводорода (III), имеющего в ИК-спектре полосы поглощения при 2930, 2865, 1457, 1370, 730 и 718 см^{-1} .

б) *Высокотемпературное гидрирование*. 0,45 г флавумицина А озонировали и продукты озонолиза каталитически восстанавливали, как описано в опыте а. Коричневый осадок растворили в 60 мл смеси уксусная кислота — этиловый спирт (1 : 5) и поместили в автоклав для гидрирования. Гидрирование вели 2,5 ч при 200° и 200 атм в присутствии 0,5 г Pd / C. После удаления растворителя в остатке получили масло. Методом ГЖХ из этой смеси были выделены углеводороды (IV), (V), (VI), кетон (VII) и замещенные тетрагидропираны (VIII) — (XII).

3. *Окисление пергидрофлавумицина А*. 0,5 г пергидрофлавумицина А, полученного при гидрировании антибиотика (I) над Pt в условиях опыта I, нагревали 3 ч на водяной бане с 10 мл конц. азотной кислоты. После окончания реакции реакционную смесь экстрагировали эфиром и метилировали диазометаном. Смесь диметиловых эфиров кислот (XIII), (XIV) анализировали на приборе ЛКВ-9000.

4. *Ретроальдольное расщепление флавумицина А*. 2,5 г флавумицина А (I) растворили в 66 мл 5% NaOH и оставили на сутки при комнатной температуре. После окончания реакции смесь экстрагировали трижды равными объемами эфира. Экстракт промыли водой до нейтральной реакции и высушили. Сконцентрированный экстракт вносили в колонку с Al_2O_3 (II акт.). После элюирования смесью ацетон — эфир (1 : 2) и удаления растворителей получили 35 мг оранжевых кристаллов с $\lambda_{\text{макс}}$ 425 нм. Полученный непредельный альдегид (XV) растворили в смеси метанол — гексан (1 : 2), прибавили 100 мг борогидрида натрия и смесь оставили на ночь. В УФ-спектре наблюдались максимумы поглощения при 380, 400 и 425 нм (XVI).

Раствор перенесли в сосуд для гидрирования, добавили 0,1 г окиси платины и гидрировали 30 мин. После удаления растворителей продукт очищали хроматографированием в тонком слое силикагеля в системе хлороформ — метанол (85 : 15), отбирая фракцию с R_f 0,9.

В результате получили 5 мг диола (XVII), представляющего собой бесцветное масло.

5. *Перметоксиполиол (XVIII)*. Через суспензию 2,7 г флавумицина А (I) в 130 мл метанола пропускали 2 ч при -80° озонированный кислород. По окончании реакции к холодному раствору небольшими порциями добавили 9 г борогидрида натрия и температуру реакционной смеси

медленно довели до комнатной. После удаления растворителя остаток растворили в воде при pH 4,0 и экстрагировали *n*-бутанолом. Бутанол удалили в вакууме, а остаток кипятили 1 ч с 50 мл 5% КОН и снова экстрагировали *n*-бутанолом. Бутанольный экстракт концентрировали и остаток разделяли ТСХ на силикагеле в 96% этаноле, отбирая зону с R_f 0,95.

Выделенный полиол далее кипятили с иодистым метилом в присутствии КОН до исчезновения в ИК-спектре полосы поглощения в области 3400 cm^{-1} . Полученное перметоксипроизводное (XVIII) тщательно промывали водой, абсолютным эфиром, сушили в вакууме и анализировали масс-спектрометрически.

ЛИТЕРАТУРА

1. Кругликова Л. Ф., Мицкевич В. М., Шенин Ю. Д., Цыганов В. А., Карпенко М. П., Этингов Е. Д., Яковлева Е. П. (1975) Антибиотики, 9, 771—775.
2. Кругликова Л. Ф., Шенин Ю. Д. (1976) Антибиотики, 5, 407—411.
3. Cope A. C., Bly R. K., Burrows E. P., Ceder O. J., Gillis B. T., Porter R. F., Johnson H. E. (1962) J. Amer. Chem. Soc., 84, 2170—2178.
4. Ceder O., Waiswiz J. M., van der Hoeven M. C. (1964) Acta chem. scand., 18, 83—97.
5. Borowski E., Mechlinski W., Falkowski L., Ziminski T. (1965) Tetrahedron Lett., 473—478.
6. Боровский Э. В., Шенин Ю. Д., Соловьев С. Н. (1973) в сб. Микогептин и его клиническое применение, с. 24—32, М.
7. Borowski E., Falkowski L., Golik J., Zielinski J., Ziminski T., Mechlinski W., Jereczek E., Kolodziejczyk P., Aldercreutz H. (1971) Tetrahedron Lett., 1987—1992.
8. Bohlmann F., Dehmlov E. V., Neuhahn H. J., Brandt R., Reinicke I. (1970) Tetrahedron, 26, 2191—2198.
9. Bohlman F., Dehmlov E. V., Neuhahn H. J., Brandt R., Reinicke I. (1970) Tetrahedron, 26, 2199—2207.
10. Nakano H. (1961) J. Antibiot., Ser A., 14, 72—85.
11. Herlan A. (1965) Brennstoff-Chem., 46, 264.
12. Patrick J. B., Williams R. P., Wolf C. F., Webb J. S. (1958) J. Amer. Chem. Soc., 80, 6688—6689.
13. Gaudiano G., Bravo P., Quilico A. (1966) Tetrahedron Lett., 3559—3565.
14. Ceder O. (1964) Acta chem. scand., 18, 83—97.
15. Pandey R. C., Narasimhachari N., Rinehart K. L., Millington D. S. (1972) J. Amer. Chem. Soc., 94, 4306—4310.
16. Eisenbrandt K. (1967) Z. Chem., 7, 311—312.

Поступила в редакцию
28.IV.1976
После доработки
25.VIII.1976

THE STRUCTURE OF AGLYCON MOIETY OF FLAVUMYCIN A, AROMATIC HEPTAENE ANTIBIOTIC

SHENIN Ju. D., KROUGLIKOVA L. F.

*All-Union Research and Technological Institute
of Antibiotics and Enzymes, Leningrad*

The studies on the products of chemical degradation of flavumycin A, an antifungal heptaene antibiotic, allowed to propose the following structure for its aglycon: 1,39-lactone 3,5,7,10,12,14,16,18,22,39-decahydroxy-8-(1'-hydroxypentyl)-23-methyl-41-(*p*-aminophenyl)-20,41-diketohentetraconta-24, 26, 28, 30, 32, 34, 36-heptaene-1,21-dicarboxylic acid.