



УДК 615.332:543.4

НОВЫЕ АНТИБИОТИКИ ГРУППЫ
КАРБОНИЛ-КОНЪЮГИРОВАННЫХ ПЕНТАЕНОВ — ФЛАВОПЕНТИН
И БРУНЕФУНГИН

*Кулалаева З. И., Гибалов В. И., Полтораки В. А.,
Силаев А. Б.*

Московский государственный университет, биологический факультет

Проведена идентификация четырех противогрибковых антибиотиков, выделенных из актиномицетов. Детальный анализ ИК-, масс- и ^1H -ЯМР-спектров исследуемых антибиотиков и их производных позволил установить, что два из них, флавопентин и брунефунгин, являются новыми представителями группы карбонил-конъюгированных пентаенов.

Ранее сообщалось о выделении противогрибковых карбонил-конъюгированных пентаеновых антибиотиков из *Actinomyces brunneofungus* [1] и из некоторых актиномицетов группы *Flavus* [2]. Сопоставление ряда физико-химических характеристик выделенных антибиотиков с описанными в литературе дало основание предполагать, что среди них имеются новые представители карбонил-конъюгированных пентаенов [3—5].

С целью дальнейшего сравнительного изучения антибиотиков 464, 703, 690 и 2-4, а также выяснения некоторых их структурных особенностей был использован комплекс физико-химических методов (ИК-, масс- и ^1H -ЯМР-спектроскопия).

Все исследуемые антибиотики имеют близкие ИК-спектры (рис. 1). Они содержат полосу поглощения с частотой около 1700 см^{-1} , которая относится к валентным колебаниям лактонного карбонила, и полосы с частотой 1630 и 1580 см^{-1} , обусловленные наличием сопряженных и несопряженных двойных связей в их молекулах. Различия в ИК-спектрах антибиотиков наблюдались лишь в области 1100 — 1130 и 740 — 750 см^{-1} . Полосе с частотой 1100 — 1130 см^{-1} придается особое значение при идентификации отдельных представителей карбонил-конъюгированных пентаенов [6]. Сохранение этой полосы в ацетатах исследуемых антибиотиков позволяет отнести поглощение в этой области к валентным колебаниям С—О лактонной группы. В ИК-спектрах антибиотика 464 обнаружена полоса с максимумом при 1130 см^{-1} , наблюдаемая для флавофунгина [7], а в спектрах антибиотиков 690, 703 и 2-4 — полоса при 1100 см^{-1} , наблюдаемая для других представителей этой группы — флавомикоина, розеофунгина и сургумицина [6, 8, 9]. В ИК-спектрах антибиотиков 703, 690 и 2-4 в отличие от антибиотика 464 наблюдается полоса с максимумом при 740 см^{-1} (рис. 1). Антибиотики флавомикоин, розеофунгин и сургумицин также имеют в ИК-спектрах поглощения малоинтенсивную полосу при 740 — 750 см^{-1} [6, 8, 9], тогда как в спектре флавофунгина эта полоса от-

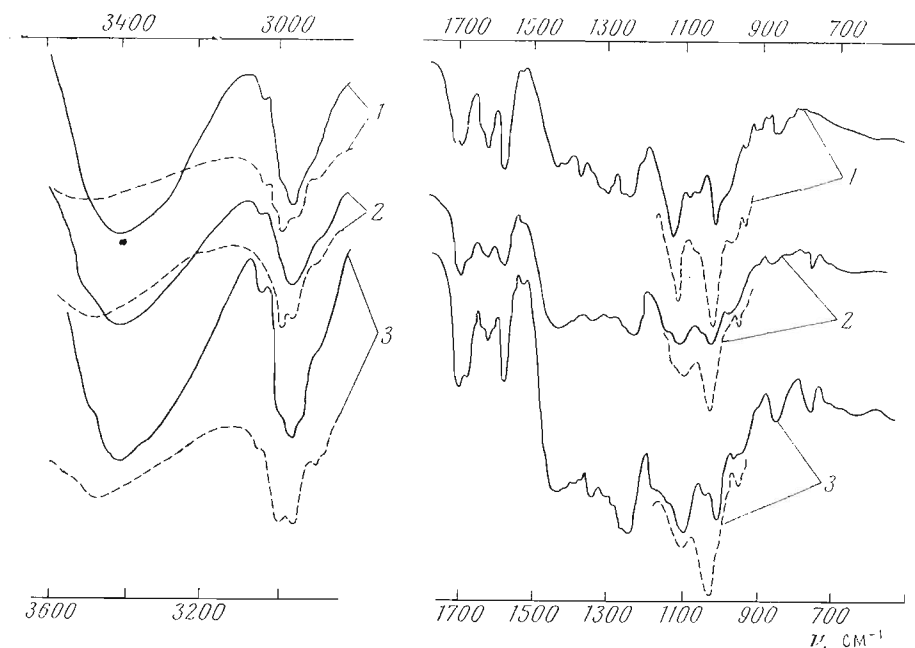
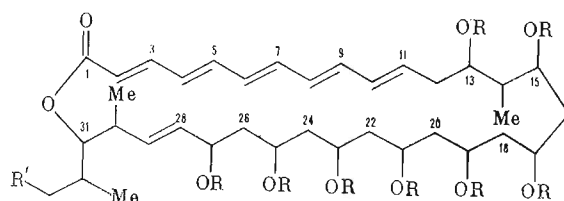


Рис. 1. ИК-спектры карбонил-конъюгированных пентаэновых антибиотиков (сплошные линии) и их ацетатов (пунктир) в таблетках КВг: 1 — флавофунгин и антибиотик 464; 2 — антибиотики 703 и 690; 3 — антибиотик 2-4

сутствует [7]. Поскольку такое поглощение, по нашему мнению, вероятно, связано со скелетными колебаниями насыщенной части макролактонного кольца [10], можно предположить наличие насыщенной цепочки в макролактонном кольце антибиотика 703, 690 и 2-4 и отсутствие ее у антибиотика 464.

Спектры ^1H -ЯМР исследуемых антибиотиков (см. рис. 2) мы сравнивали со спектром одного из представителей группы карбонил-конъюгированных пентаенов — флавофунгина (I) [7, 11, 12], отнесение сигналов которого было сделано на основании аддитивных схем [13].



- (Ia) R = H, R' = H
 (Iб) R = H, R' = Me
 (IIa) R = Ac, R' = H
 (IIб) R = Ac, R' = Me

Сигналы от 0,8 до 2,3 м. д. были приписаны протонам насыщенных частей молекулы флавофунгина, сигнал при 5,5 м. д. — протонам изолированной двойной связи в положении 28 и мультиплет при 5,7—6,5 м. д. — протонам пентаеновой цепи, за исключением протона у третьего углеродного атома, сигнал которого в связи с близостью карбонила смещен до 7,4 м. д. Наличие в молекуле флавофунгина восьми гидроксильных групп было подтверждено ^1H -ЯМР-спектром его ацетата (II), который проявляет в районе 2 м. д. сигналы протонов восьми ацетильных остатков. ^1H -ЯМР-спектры исследуемых антибиотиков в значительной степени сходны со

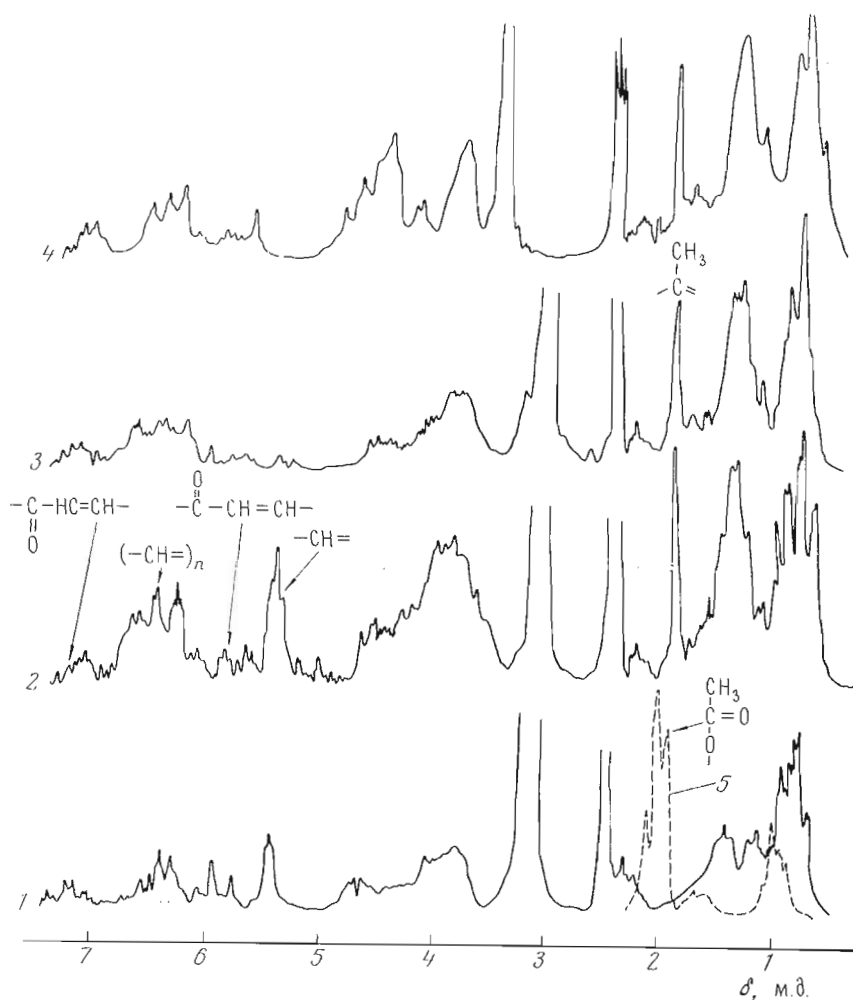


Рис. 2. Спектры протонного магнитного резонанса при 100 МГц в d_6 -DMSO: 1 — флавофунгин, антибиотик 464; 2 — антибиотик 703 (690); 3 — антибиотик 2-4; 4 — сургу-мидия; 5 — фрагмент спектров ацетатов антибиотика 464 и флавофунгина в $CDCl_3$

спектром флавофунгина. Все они содержат сигналы 9 протонов пяти сопряженных двойных связей при 5,7—6,5 м. д. и одного протона около 7 м. д. (рис. 2). Спектры 1H -ЯМР ацетатов исследуемых антибиотиков указывают на наличие в их молекулах восьми ацетоксигрупп.

Сравнение спектров 1H -ЯМР и масс-спектров ацетатов исследуемых антибиотиков со спектральными характеристиками флавофунгина и его ацетата позволило выявить также некоторые особенности их строения.

Так, в масс-спектре ацетата антибиотика 464 обнаружены пики двух молекулярных ионов с m/e 986 и 1000 одинаковой интенсивности, что соответствует молекулярным весам гомологов антибиотика 650 и 664 и указывает на соотношение гомологов (а) : (б) 1 : 1. В таком же соотношении находятся гомологи у антибиотика микотицина [11], тогда как для флавофунгина соотношение гомологов составляет 10 : 1 [7, 12] (см. таблицу). Антибиотик 464, так же как флавофунгин и микотицин, содержит 4 С-метильные группы. Эти данные подтверждают ранее сделанное заключение о близости антибиотика 464 к флавофунгину [3, 4] и позволяют предположить, что гомологи, входящие в состав этих двух антибиотиков и микотицина, идентичны.

Сравнительная характеристика карбонил-конъюгированных пентаенов

Антибиотик	Кол-во изолир.- C=C- связей	Кол-во CН ₂ -групп	Кол-во ОН-групп	Наличие и соотноше- ние гомоло- гов (а : б)	Молекуляр- ный вес *	Эмпирическая формула	Источник сведений
Флавофунгин	1	4	8	10:1	а) 650 б) 664	а) C ₃₆ H ₅₈ O ₁₀ б) C ₃₇ H ₆₀ O ₁₀	[7, 12]
Микотицин	1	4	8	1:1	а) 650 б) 664	а) C ₃₆ H ₅₈ O ₁₀ б) C ₃₇ H ₆₀ O ₁₀	[11]
Флавомикоин	Нет	3	7-8	Нет	720	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₀	[6]
Розеофунгин	Нет давных		6	1:1	а) 684 б) 698	а) C ₃₈ H ₆₈ O ₁₀ б) C ₃₉ H ₇₀ O ₁₀	[9, 18]
464	1	4	8	1:1	а) 650 б) 664	а) C ₃₆ H ₅₈ O ₁₀ б) C ₃₇ H ₆₀ O ₁₀	Настоящее исследова- ние » »
703 (690)	2	4	8		718	C ₄₁ H ₆₆ O ₁₀	
2-4	1	4	8		720	C ₄₁ H ₆₈ O ₁₀	

* Рассчитан по основным изотопам (¹²C, ¹H, ¹⁶O).

Спектры ¹H-ЯМР антибиотиков 703 и 690 и масс-спектры их ацетатов практически одинаковы, что подтверждает вывод об идентичности этих соединений [4]. В масс-спектрах их ацетатов присутствует пик с *m/e* 994 и серия пиков, получающаяся в результате элиминирования от него семи ацетильных групп. Поскольку ¹H-ЯМР-спектры ацетатов антибиотиков 703 и 690 указывают на наличие в их молекулах восьми ацетильных групп, можно полагать, что молекулярный ион в данном случае равен 1054 и молекулярные веса самих антибиотиков составляют 718. В отличие от флавофунгина и микотицина, содержащих одну несопряженную двойную связь, антибиотики 703 и 690 наряду с системой пяти сопряженных двойных связей содержат две дополнительные несопряженные двойные связи, о чем свидетельствует наличие в их спектрах ЯМР четырехпротонного мультиплета с химическим сдвигом 5,3—5,7 м. д. (рис. 2). Разница в 54 единицы между молекулярными весами антибиотиков 703 и 690 и высшего гомолога флавофунгина (см. таблицу) отвечает присутствию в молекулах антибиотиков 703 и 690 дополнительной группы C₄H₆, т. е. фрагмента, содержащего двойную связь. Существенное отличие ¹H-ЯМР-спектров антибиотиков 703 и 690 от спектра флавофунгина состоит в том, что в них присутствует дополнительный трехпротонный синглет при 1,84 м. д., отвечающий, судя по его химическому сдвигу, метильной группе при двойной связи. Метильные группы, связанные с атомом углерода изолированной двойной связи, обычно дают сигнал при 1,6—1,7 м. д. Например, у антибиотика мадумидина трехпротонный синглет такой метильной группы проявляется при 1,71 м. д. [14]. Метильные группы у конечного атома полиеновой цепи каротиноидов дают сигналы при 1,80—1,82 м. д., «внутрицепные» метильные группы — при 2,05—1,85 м. д. [15, 16], метилпентаановый антибиотик чейнин, в молекуле которого присутствует группа СН₃ у конечного атома углерода шестановой цепи, — синглет при 1,85 м. д. [17].

Таким образом, проведенный спектральный анализ антибиотиков 703 и 690 и их ацетатов показал вероятную идентичность этих веществ и позволил отнести их к группе пентаенов, имеющих метильную группу в цепи сопряжения.

Антибиотик 2-4, описанный ранее как «флавофунгиноподобный» [1], имеет существенные отличия от флавофунгина. В масс-спектре ацетата антибиотика 2-4 присутствует молекулярный ион с *m/e* 1056 и серия пиков,

получающихся в результате элиминирования от него восьми ацетильных групп. Из этого следует, что молекулярный вес антибиотика 2-4 равен 720. Разница в две единицы между значениями молекулярных весов у антибиотиков 2-4 и 703 позволяет сделать вывод, что первый не содержит дополнительной изолированной двойной связи. Действительно, в спектре ЯМР антибиотика 2-4 отсутствует сигнал двух протонов с химическим сдвигом 5,5 м. д., который наблюдается для дополнительной изолированной двойной связи у антибиотиков 703 (рис. 2). В остальном спектр ^1H -ЯМР антибиотика 2-4 близок к спектру антибиотика 703, и, в частности, в нем присутствует синглетный трехпротонный сигнал при 1,84 м. д., что свидетельствует о наличии в его молекуле метильной группы в системе сопряженных двойных связей.

Таким образом, совокупность данных ИК-, масс-спектрометрии и спектрометрии протонного магнитного резонанса позволила определенно говорить об идентичности компонентов антибиотика 464, флавофунгина и микотицина и о новизне антибиотика 703 (идентичного антибиотику 690) и антибиотика 2-4. Отличие двух последних антибиотиков от флавофунгина и сургумицина [8] установлено прямым сравнением их образцов, а сравнение с флавомикоином и розеофунгином проведено по опубликованным данным (см. таблицу). Антибиотик 703 (690) отличается от флавомикоина значением молекулярного веса, числом изолированных двойных связей, числом и положением метильных групп, от розеофунгина — значением молекулярного веса, а от сургумицина — коэффициентом распределения [4]. Следовательно, он является новым карбонил-конъюгированным пентаеновым антибиотиком, и мы назвали его флавопентином.

Антибиотик 2-4 имеет равный с флавомикоином молекулярный вес, но отличается от него наличием изолированной двойной связи, положением и числом метильных групп; от розеофунгина этот антибиотик отличается по молекулярному весу. По коэффициенту противоточного распределения и данным хроматографии [4] он близок к сургумицину [8], однако сравнение ^1H -ЯМР-спектров этих антибиотиков обнаружило существенные различия между ними (рис. 2). Поэтому для него, как для нового представителя группы карбонил-конъюгированных пентаенов, мы предлагаем название брунефунгин.

Экспериментальная часть

ИК-спектры антибиотиков и их ацетатов измеряли на спектрометре UR-20 в таблетках с КВг и в пасте с вазелиновым маслом, масс-спектры — на приборе ЛКВ-9000 (Швеция) при энергии ионизирующих электронов 70 эВ и температуре ионизационной камеры 180—270°. Спектры ^1H -ЯМР получили на приборе фирмы Varian (США) при рабочей частоте 100 МГц и температуре образца 80°. Растворитель для исследуемых антибиотиков — d_6 -DMSO, для ацетатов — CDCl_3 .

Очистка антибиотиков. Для получения ^1H -ЯМР-спектров антибиотиков, выделенные по ранее описанной методике [2], подвергали дополнительной очистке методом противоточного распределения в автоматическом аппарате Крейга АПР-100 на 80 переносах в системе растворителей хлороформ — метапол — диэтиловый эфир — боратный буфер (рН 7,5), 2 : 4 : 3 : 2.

Получение ацетатов. Антибиотик (100 мг) растворяли в смеси пиридина и уксусного ангидрида (1 : 1), смесь выдерживали 24 ч при комнатной температуре, затем выливали в ледяную воду и выпавший в осадок ацетат экстрагировали хлороформом. Экстракт промывали несколько раз водой и сушили над безводным Na_2SO_4 . Продукт очищали хроматографией на окиси алюминия в хлороформе.

Авторы выражают благодарность канд. хим. наук Б. В. Розынову (ИБХ АН СССР) за помощь при снятии и обработке масс-спектров, млад-

шему научному сотруднику химического факультета МГУ Ю. А. Стреленко за консультации по расшифровке спектров ^1H -ЯМР и канд. биол. наук Ю. Е. Коневу (ВНИТИАФ) за предоставление препарата сургумидина.

ЛИТЕРАТУРА

1. Красильников Н. А., Вишгородова К. А., Полторак В. А., Петрова Л. И., Силаев А. Б. (1971) *Антибиотики*, 16, 198—203.
2. Полторак В. А., Кулалаева З. И. (1974) *Микробиология*, 43, 869—873.
3. Кулалаева З. И., Гибалов В. И., Стреленко Ю. А., Решетова О. С. (1976) Тезисы докладов Всесоюзной научно-теоретической конференции молодых ученых-микробиологов, с. 24, Ташкент.
4. Кулалаева З. И., Полторак В. А., Силаев А. Б., Северинец Л. Я. (1977) *Биол. науки. Научн. докл. высшей школы*, 157, 107—110.
5. Кулалаева З. И. (1977) Автореферат канд. дис. «Изучение природы собственной люминесценции некоторых актиномицетов группы *Flavus 2*», МГУ.
6. Shlegel R., Thrum H. (1971) *J. Antibiot.*, 24, 360—374.
7. Bognár R., Brown B. O., Lockley W. J. S., Makleit S., Toubé T. P., Weedon B. G. L., Zsupán K. (1970) *Tetrahedron Lett.*, 471—474.
8. Северинец Л. Я., Конев Ю. Е. (1974) *Антибиотики*, 19, 291—294.
9. Ветлугина Л. А., Дзюбанова Р. М. (1973) *Антибиотики*, 18, 774—777.
10. Казидина Л. А., Куплетская Н. В. (1971) Применение УФ-, ИК- и ЯМР-спектроскопии в органической химии, с. 195, «Высшая школа», М.
11. Wasserman H. H., Van Verth J. E., McCaustland D. J., Borowitz I. J., Kamber B. (1967) *J. Amer. Chem. Soc.*, 89, 1535—1536.
12. Bognár R., Macleit S., Zsupán K., Brown B. O., Lockley W. J. S., Toubé T. P., Weedon B. G. L. (1972) *J. Chem. Soc. Perkin Trans.*, 1, 1848—1856.
13. Жунке А. (1974) Ядерный магнитный резонанс в органической химии, с. 28—58, «Мир», М.
14. Бражникова М. Г., Кудинова М. К., Потапова Н. П., Филиппова Т. М., Боровский Э., Зелинский Я., Голцк Ю. (1976) *Биоорган. химия*, 2, 149—156.
15. Barker M. S., Davic J. V., Jackman L. M., Weedon B. S. L. (1960) *J. Chem. Soc.*, 3, 2870.
16. Эмсли Дж., Финей Дж., Сатклиф Л. (1969) Спектроскопия ядерного магнитного резонанса высокого разрешения, т. 2, «Мир», М.
17. Pandey R. C., Narasimbachari N., Kenneth L., Rinehart J., Millington D. S. (1972) *J. Amer. Chem. Soc.*, 94, 4306—4310.
18. Ветлугина Л. А., Дзюбанова Р. М. (1976) II конференция биохимиков республик Средней Азии и Казахстана, с. 58, «Илим», Фрунзе.

Поступила в редакцию
8.VIII.1977

После переработки
14.XII.1977

FLAVOPENTIN AND BRUNEFUNGIN, NEW ANTIBIOTICS OF THE CARBOXYL-CONJUGATED PENTAENE GROUP

KULALAEVA Z. I., GIBALOV V. I., POLTORAK V. A., SILAEV A. B.

[*Biology Department, M. V. Lomonosov State University, Moscow*]

Identification of four antifungal antibiotics from actinomyces was carried out. From the analysis of IR, mass- and ^1H -NMR spectra of the antibiotics and their derivatives it was revealed that two antibiotics — flavopentin and brunefungin — are the new representatives of the group of carbonyl-conjugated pentaenes.