

Синтез 33–(R,S)–бромо–33–дезоксиполигомицина А

Л. Н. Лысенкова,^{a@1} О. Ю. Савельев,^b А. М. Королев,^a В. Н. Даниленко,^c
О. Б. Беккер,^c Д. А. Мавлетова,^c А. А. Ватлин,^c О. А. Омельчук,^a
А. Е. Щекотихин^{a@2}

^aИнститут по изысканию новых антибиотиков имени Г.Ф. Гаузе, 119021 Москва, Российская Федерация

^bМосковский государственный университет имени М.В. Ломоносова, 119991 Москва, Российская Федерация

^cИнститут общей генетики Российской академии наук имени Н.И. Вавилова, 119333 Москва, Российская Федерация

^{@1}E-mail: lyudmil-lys@yandex.ru

^{@2}E-mail: shchekotikhin@mail.ru

В статье представлен синтез, физико-химические свойства и антимикробная активность 33-бромо-33-дезоксиполигомицина А (3), полусинтетического производного олигомицина А (1). Бромполигомицин А (3) получен в виде смеси двух 33-(R,S)-диастереомеров из 33-О-мезилолигомицина А (2) замещением мезилоксигруппы при действии тетрабутиламмоний бромида или бромида калия в присутствии межфазного катализатора.

Ключевые слова: 33-(R,S)-Бромо-33-дезоксиполигомицин, олигомицин А, макролидный антибиотик, ингибитор F1FO-АТФазы.

Synthesis of 33–(R,S)–Bromo–33–deoxyoligomycin A

Lyudmila N. Lysenkova,^{a@1} Oleg Y. Saveljev,^b Alexander M. Korolev,^a
Valery N. Danilenko,^c Olga B. Bekker,^c Dilara A. Mavletova,^c Aleksey A. Vatlin,^c
Olga A. Omelchuk,^a and Andrey E. Shchekotihin^{a@2}

^aGause Institute of New Antibiotics, 119021 Moscow, Russian Federation

^bLomonosov Moscow State University, 119991 Moscow, Russian Federation

^cVavilov Institute of General Genetics of Russian Academy of Sciences, 119333 Moscow, Russian Federation

^{@1}Corresponding author E-mail: lyudmil-lys@yandex.ru

^{@2}Corresponding author E-mail: shchekotikhin@mail.ru

A new derivative of macrolide antibiotic oligomycin A – bromooligomycin 3 has been synthesized. Reaction of 33-O-mesylooligomycin A (2) with tetra-butylammonium bromide or potassium bromide produced a mixture of two diastereomers 33-(R,S)-bromo-33-deoxyoligomycin A (3). The structure was confirmed by NMR spectroscopy and high-resolution mass spectrometry. Antimicrobial activity and physicochemical properties of 33-deoxy-33-bromooligomycin A (3) were described for a mixture of diastereomers.

Keywords: 33-(R,S)-Bromo-33-deoxyoligomycin, oligomycin A, macrolide antibiotic, F1FO-ATPase inhibitor.

Введение

Продуцируемый актиномицетами рода *Streptomyces* антибиотик-макролид олигомицин А^[1] обладает высокой антифунгальной и цитотоксической активностью, однако большинство бактерий устойчивы к его действию, за исключением актинобактерий, в том числе стрептомицетов.^[2] Олигомицин А ингибирует F₀F₁-АТФазу, что приводит к нарушению окислительного фосфорилирования и других процессов энергетического обмена. Связываясь с F₀ субъединицей АТФазы, олигомицин А блокирует работу белка OSCP (the oligomycin sensitivity conferring protein).^[3] В настоящее время предполагают, что олигомицин А связывается с карбоксильной группой Glu 59, непосредственно участвующей в переносе протонов через мембрану, сопряженном с синтезом АТФ. Возможно, 2-гидроксипропильная группа олигомицина А заслоняет доступ протонов к карбоксилат-аниону Glu 59, ингибируя поток протонов через F₀ субъединицу.^[4]

Поэтому разработка методов трансформации гидроксильной группы в С-33-положении боковой цепи в другие функциональные группы, такие как галогены (F, Cl, Br), SCN, SH, необходима для исследования механизма действия олигомицина А и функционирования АТФазы, а также для изучения связи Структура-Активность соединений этого ряда. Недавно 33-дезоксидеокси-33-(S)-фторолигомицин А был получен из олигомицина действием фторирующего реагента 1,3-бис-(2,6-диизопропилфенил)-2,2-дифторо-2,3-дигидро-1H-имидазола (PhenoFluor), несмотря на присутствие других гидроксильных групп, что свидетельствует о высокой реакционной способности и доступности 33-гидроксильной группы олигомицина.^[5]

Ранее была описана трансформация олигомицина А (1) в 33-О-мезилолигомицин А (2) действием метансульфонилхлорида в пиридине в присутствии 4-диметиламинопиридина (ДМАП).^[6] Для расширения возможностей применения реакций нуклеофильного замещения и получения полусинтетических олигомицинов нами ведется поиск методов синтеза 33-галогенопроизводных олигомицина А. Исследование реакционных свойств 33-О-мезилолигомицина А (2) показало, что мезилоксигруппа может быть замещена на бромид-ион, однако реакция сопровождается рацемизацией, что приводит к образованию смеси двух 33-(R,S)-диастереомеров бромоллигомицина А (3).

Экспериментальная часть

Химическая часть

Олигомицин А (чистота 95%), продуцируемый штаммом *Streptomyces avermitilis* NIC B62, получен в автономном некоммерческом исследовательском центре БИОАН (Москва, Российская Федерация).

Аналитическую ТСХ проводили на алюминиевых пластинках с закрепленным слоем силикагеля F₂₅₄ толщиной 0.2 мм (Merck); колоночную хроматографию осуществляли на силикагеле 60 (Merck 60 F₂₅₄, 0.040–0.063 мм). Соединения обнаруживали в УФ-свете, проявляли йодом или реактивом,

содержащим анисовый альдегид (1.5 мл анисового альдегида, 1.0 мл концентрированной серной кислоты, 0.5 мл ледяной уксусной кислоты в 30.0 мл этанола).

Аналитическую ВЭЖХ проводили с использованием хроматографа Shimadzu LC-20 AD (Shimadzu Corporation, Japan) на колонке Kromasil-100-C18, размером 5 мкм, 4.6×250 мм. Объем петли инжектора – 20 мкл. Детектирование проводили при длине волны 230 нм. Элюирование проводили в течение 35 мин, системой MeCN-H₂O в градиентном режиме, при котором содержание MeCN изменялось от 80 до 95 % за первые 10 мин, при скорости потока – 1 мл/мин.

Масс-спектры высокого разрешения ESI регистрировали на приборе «micrOTOF-Q II» (Bruker Daltonics GmbH, Германия). Растворы образцов (0.1 мг/мл в AcCN или MeOH или смесях этих растворителей) прямо вводили в ESI-источник с помощью шприцевого насоса со скоростью потока 3 мкл/мин. Положительно и отрицательно заряженные ионы анализировали при следующих условиях детектирования: напряжении на капилляре 4 кВ, давлении азота в небулайзере 0.4 Бар (5.8 psi), скорости потока осушающего газа 4.0 л/мин и температуре источника 180 °С. Инструмент калибровали с помощью 1 % калибровочного раствора для ESI (Sigma-Aldrich, Швейцария) в 95 % водном AcCN. Точность измерений составляла 0.43 ppm в интервале масс между 118.086255 и 2721.894829. Для измерений использовали растворители с содержанием более 98 %, предназначенные для LC-MS. Фрагментацию бромоллигомицина 3 проводили методом tandemной масс-спектрометрии в режиме мониторинга множественных реакций (MRM) при энергии соударений исходной молекулы с молекулами азота 30–90 эВ в ячейке столкновительной диссоциации (CID).

УФ спектр регистрировали на UV/Vis двулучевом спектрофотометре UNICO (США) в метаноле.

ИК-спектр регистрировали с использованием ИК-Фурье спектрометра Nicolet-iS10 (детектор DTGS, светоделиитель KBr) с приставкой Smart Performer, оснащенный ZnSe кристаллом (Nicolet, Madison, WI, USA). Измерение проводили при разрешении 4 см⁻¹; зона спектра 4000–650 см⁻¹. Спектр обрабатывали с использованием программы OMNIC-7.0. Оптическое вращение измеряли на поляриметре AA55 Polarimeter (Optical Activity Ltd, Великобритания).

Для бромоллигомицина А (3) зарегистрированы спектры ЯМР ¹H и ¹³C, а также ряд двумерных спектров (COSY, ¹³C-HSQC, ¹³C-HMBC, ROESY). Спектры ЯМР регистрировали на спектрометре Bruker Avance 600 с частотой протонного резонанса 600 МГц (Bruker Daltonics GmbH, Бремен, Германия). Вещество растворялось в дейтерохлороформе (10 мг в 550 мкл CDCl₃). Все спектры регистрировались при температуре 298К. Шкала хим. сдвигов выставлялась в спектрах ¹H и ¹³C, по сигналам TMS и дейтерохлороформа. Двумерные спектры регистрировались на инверсном датчике (TXI) с импульсным градиентом поля. Спектр COSY выполнен в варианте с фильтром двухквантовой когерентности (DQF). В спектрах HSQC использовался градиентный выбор когерентности с детектированием по методу эхо-антиэхо. Для разделения сигналов диастереомерных форм зарегистрирован спектр с большим размером данных вдоль размерности ¹³C: 3200 инкрементов, при сокращенном размере окна (1–79 м.д.), соответственно, с высоким физическим разрешением (3.68 Гц вдоль размерности ¹³C). В спектре ROESY время смешивания 300 мс.

Синтез 33-(R,S)-бромоллигомицина А (3). Метод А. В колбу помещали 33-О-мезилолигомицин А (2)^[6] (0.03 г, 0.035 ммоль), N-метил-2-пирролидон (5.0 мл), тетрабутиламмоний бромид (0.22 г, 0.70 ммоль) и продували аргоном. Реакционную колбу помещали в предварительно нагретую до 95° масляную баню и выдерживали реакционную смесь

4–4.5 ч при этой температуре, при интенсивном перемешивании в атмосфере аргона. Через 1.5 ч к смеси добавляли тетрабутиламмоний бромид (0.11 г, 0.35 ммоль). Протекание реакции контролировали методом ТСХ, использовали систему гексан/ацетон (10:7), хроматограмму проявляли йодом или анисовым альдегидом. По окончании реакции реакционную смесь охлаждали, разбавляли водой (10.0 мл) и экстрагировали этилацетатом (25.0 мл). Экстракт последовательно промывали водой, раствором лимонной кислоты (0.1н), водой, раствором NaHCO_3 (0.1н), водой до pH 7. Экстракт сушили безводным сульфатом натрия и концентрировали на роторном испарителе. Полученный продукт последовательно очищали колоночной хроматографией на силикагеле с использованием систем элюентов гексан/ацетон (10:7) и хлороформ/метанол (10:0.5). Получали 0.013 г (45 %) бромологомицина **3**, в виде бесцветного аморфного порошка. Т. пл. 115–117 °С. R_f 0.67. m/z (HRMS ESI) (%): 875.4254 (100) $[(M+Na)^+]$; вычислено для $\text{C}_{45}\text{H}_{73}\text{BrO}_{10}\text{Na}$: 875.4284. ИК (пленка) ν_{max} cm^{-1} : 3424 с, 2969 с, 2925 с, 2880 с, 1698 с, 1644 сл, 1456 ср, 1381 ср, 1278 ср, 1224 ср, 1189 ср, 1135 сл, 1096 ср, 1048 ср, 985 с, 924 ср, 880 ср. УФ (метанол) λ_{max} (lg ϵ) нм: 260 (4.4), 280 (4.2). $[\alpha]_{\text{D}}^{20}$ (с 1.15, метанол) -27.8° . $R_{\text{t}1}=26.7$, $R_{\text{t}2}=27.5$ мин. (хроматограмма ВЭЖХ, ЯМР и ИК спектры приведены в разделе дополнительные материалы. Рисунки Д1–10).

Метод Б. В реакционную колбу помещали 33-*O*-мезилологомицин **А** (**2**) (0.03 г, 0.035 ммоль), диметилсульфоксид (3.0 мл), бромид калия (0.04 г, 0.34 ммоль), дибензо-24-краун-8 (0.003 г). Смесь выдерживали 4 ч при интенсивном перемешивании при 85 °С в атмосфере аргона. Протекание реакции контролировали методом ТСХ, пробу экстрагировали этилацетатом и отмывали водой. Для проявления ТСХ использовали систему гексан/ацетон (10:7), хроматограмму проявляли йодом или анисовым альдегидом. Реакционную смесь по окончании реакции (3–4 ч) охлаждали, разбавляли водой (10.0 мл), экстрагировали этилацетатом (25.0 мл) и несколько раз промывали водой. Экстракт сушили безводным сульфатом натрия и концентрировали на роторном испарителе. Полученный продукт последовательно очищали колоночной хроматографией на силикагеле с использованием систем элюентов гексан/ацетон (10:7) и хлороформ/метанол (10:0.5). Получали 0.011 г (38 %) бромологомицина **3**, в виде бесцветного аморфного порошка. Физико-химические свойства соединения **3**, полученного по методу Б идентичны продукту, полученному по методу А.

Биологическая часть

Методика определения антибактериальной активности веществ. Определение антибактериальной активности осуществлялось методом дисков и заключалось в определении зоны подавления роста штамма *S. fradiae* ATCC-19609 и *S. albus* ATCC-21132, засеянных газонном на агаризованной среде, вокруг бумажных дисков, содержащих олигомицин **А** (**1**) или 33-бromo-33-дезоксидолигомицин (**3**) в различных концентрациях. Для приготовления газона спорную суспензию, полученную путем смыва с агаризованной полноценной среды и пропущенную через ватный фильтр, смешивали с агаризованной средой МГ (0.7 % агара) при pH 7.5 в соотношении 1:10⁷ спор на чашку Петри и засеивали чашки с агаризованной средой МГ (2.0 % агара). После застывания агаризованной споровой суспензии, на чашки наносили бумажные диски, содержащие тестируемые соединения. Выращивание газона производили в течение 24 ч при +28 °С. Среда МГ следующего состава: 0.5 % мальтэкстракта (Sigma), 0.4 % дрожжевого экстракта (Difco), 0.05 % NaCl, 0.05 % MgSO₄, 0.05 % K₂HPO₄, 0.0001 % FeSO₄, 0.1 % KNO₃, 2 % глюкозы, pH 7.5.

Обсуждение результатов

Для получения бромологомицина **3** апробированы две методики синтеза из 33-*O*-мезилологомицина **А** (**2**): действием тетрабутиламмония бромида в *N*-метил-2-пирролидоне при 95 °С и реакцией с бромидом калия в присутствии краун-эфира в диметилсульфоксиде при 85 °С (Схема 1).

Обе методики показали близкую эффективность и дают идентичный целевой продукт, выделенный с выходом 38–45 % при полной конверсии исходного 33-*O*-мезилологомицина **А** (**1**). Подобраны оптимальные условия реакции в *N*-метил-2-пирролидоне с тетрабутиламмонием бромидом при 95 °С, при которых выход целевого продукта наибольший. Синтезированный бромологомицин **3** обнаруживается на ТСХ в виде единственного пятна, однако анализ методом ВЭЖХ двух образцов, полученных разными способами, показал наличие в продукте двух соединений с соотношением близким к 1:1 (дополнительные материалы, Рисунок Д1). Разделить полученную смесь бромпроизводных олигомицина **3** не удалось из-за близкой хроматографической подвижности.

Совокупность данных исследования синтезированного бромологомицина **3** методами ЯМР-спектроскопии (Таблица 1), масс-спектрометрии высокого разрешения (HRMS ESI) (Рисунок 1, Схема 2) и ВЭЖХ-анализа свидетельствует, что при замещении на бромид-ион образуется смесь бромпроизводных олигомицина **А**, диастереомерных по положению С-33. Поскольку ранее было показано, что замещение мезильной группы 33-*O*-мезилологомицина **А** (**2**) при действии азидата и тиоцианата сопровождается Вальденовским обращением асимметрического центра С-33,^[6,7] то наблюдаемая рацемизация в аналогичных условиях S_N2-реакции при действии бромид-иона объясняется, по-видимому, двойным замещением галоген-галоген.^[8]

Расположение атома брома в боковой цепи (С-33) доказано методами масс-спектрометрии, а также подтверждено данными ¹H и ¹³C спектров ЯМР.

HRMS-спектр целевого продукта содержал пик, соответствующий молекулярному иону лактона **3** 875.4254 $[(M+Na)^+]$. Структура 33-бromo-33-дезоксидолигомицина (**3**) подтверждена методом tandemной масс-спектрометрией (МС/МС, CID) при низкой энергии квадруполь (30–90 эВ). Один из спектров фрагментации этого соединения представлен на Рисунке 2. При энергии соударений 30–40 эВ в масс-спектрах **3** преобладал ион m/z 795, образующийся при элиминировании HBr из исходной молекулы. При увеличении энергии соударений процесс фрагментации происходит одновременно по нескольким направлениям. Так, в интервале 50–70 эВ в спектрах наблюдались ионы, образующиеся при возможном распаде лактонного кольца и последующем отщеплении фрагментов замещенной акриловой кислоты – m/z 581.4, 451.3 и 367.2 (Рисунок 1). Возможные структуры фрагментации иона **3** (m/z 875.4) изображены на Схеме 2.

¹H ЯМР-спектр 33-бromo-33-дезоксидолигомицина **А** (**3**), в целом, схож со спектром исходного олигомицина **А**,^[6] хотя для ряда сигналов наблюдается

Synthesis of 33-(R,S)-Bromo-33-deoxyoligomycin A

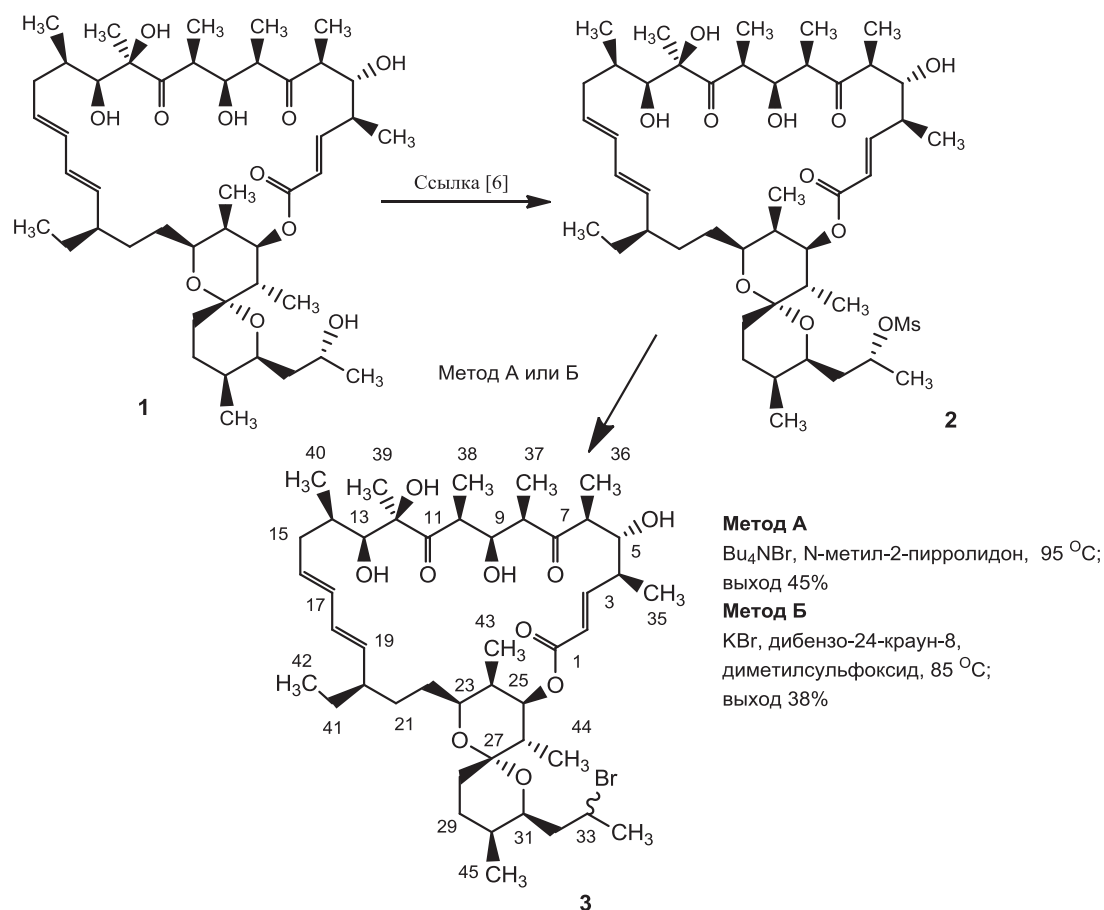


Схема 1. Синтез 33-(R,S)-бromo-33-дезоксиполигомицина А (3).

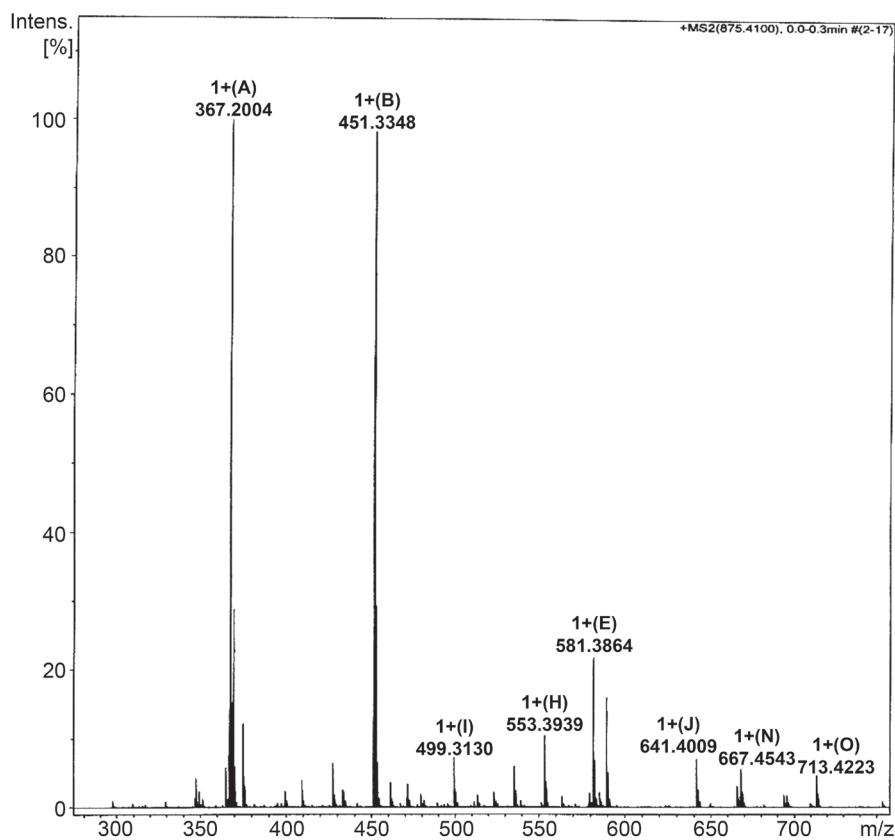


Рисунок 1. ESI-МС / МС-спектр соединения 3 при энергии соударений 70 эВ.

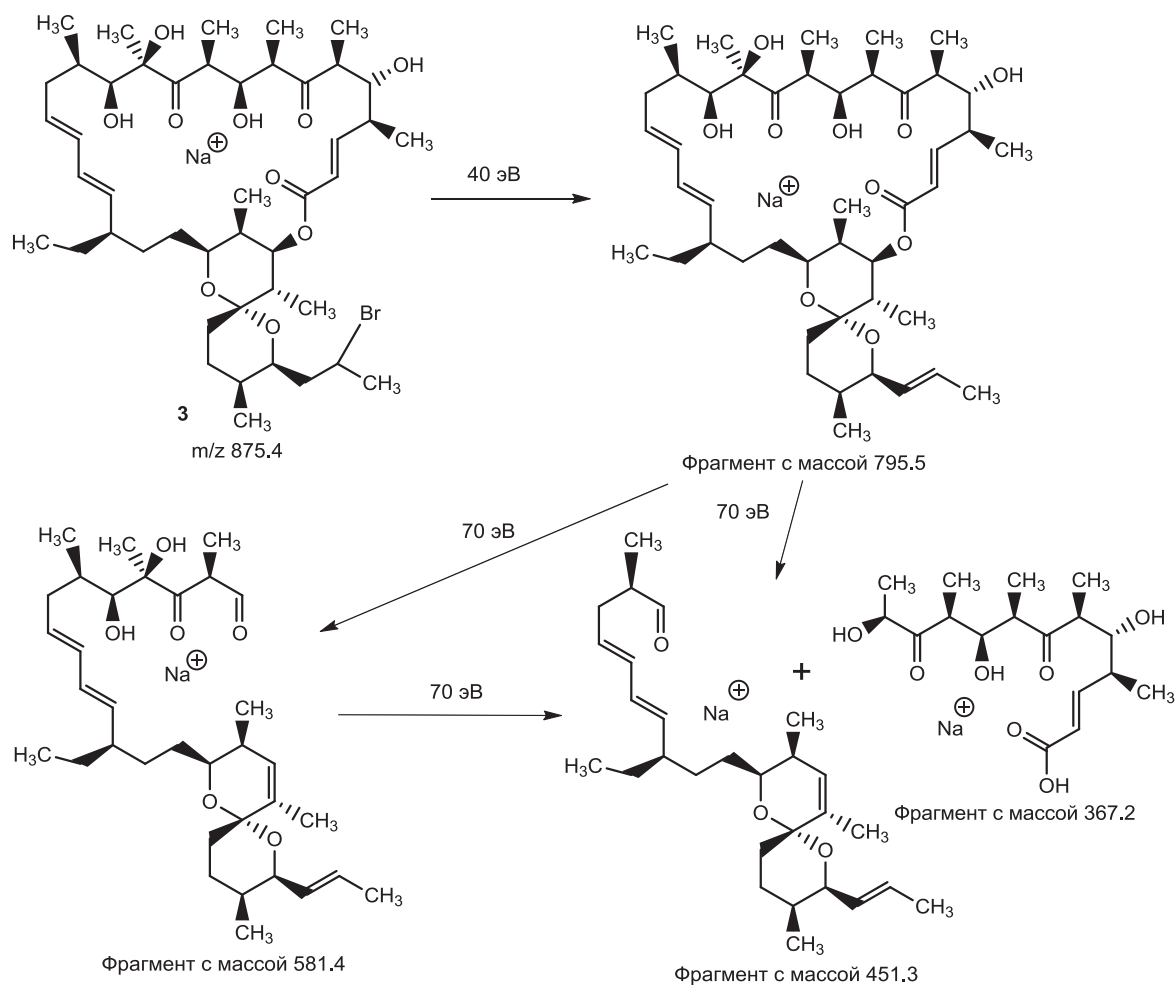


Схема 2. Фрагментация соединения **3** методом тандемной масс-спектрометрии при энергии соударения 70 эВ.

заметное различие в величине химических сдвигов. В спектрах ^1H и ^{13}C ЯМР 33-бромо-33-дезоксиполигомицина **А** (**3**) наблюдается удвоение многих сигналов, что свидетельствует о том, что полученный продукт представляет собой смесь двух соединений близкого строения (Таблица 1; спектры приведены в разделе дополнительные материалы ДЗ-Д10). При этом в спектре ^1H ЯМР сигналы в каждой паре имеют одинаковую мультиплетность и интенсивность, а в спектре ^{13}C ЯМР дублируются все линии, кроме одной – 33-С. Для большей части диастереомерной смеси оказалось возможным провести отнесение ^1H и ^{13}C ЯМР углеродных сигналов для обоих изомеров соединения. Найденные отнесения, а также разности хим. сдвигов одинаковых линий для двух диастереомеров 33-бромо-33-дезоксиполигомицина **А** (**3**, изомеры 1 и 2) приведены в Таблице 1. Отнесение к определенной молекуле изомера не удалось для атомов, у которых расстояния между спектральными линиями малы (менее 1 Гц), в Таблице 1 они приведены для двух изомеров в одном объединенном столбце.

Отнесение сигналов в ЯМР-спектрах соответствующим атомам молекулы 33-бромо-33-дезоксиполигомицина **А** (**3**), выполнено на основании анализа двумерных спектров корреляций через химические связи COSY (^1H , ^1H),

HSQC (^1H , ^{13}C), HMBC (^1H , ^{13}C), а корреляции через пространство из эксперимента ROESY (^1H , ^1H). Находящиеся в одной молекуле атомы водорода, расположенные рядом, соотносили по спектру COSY. Протоны, отстоящие друг от друга на несколько связей, но пространственно сближенные, устанавливали по спектру с эффектом Оверхаузера (ROESY). Атомы углерода, связанные с соответствующими атомами водорода, определены по спектру HSQC. Атомы водорода и углерода, отстоящие друг от друга на несколько (2–4) связей, определялись из спектра HMBC.

Расстояния между сигналами одинаковых атомов водорода и углерода для диастереомеров **3** (Таблица 1, $\Delta\delta$ H и $\Delta\delta$ C), хотя и не вполне монотонно, но увеличиваются по мере приближения к положению С-33, связанному с атомом брома. Для ^{13}C ЯМР-спектра разность величины хим. сдвигов ($\Delta\delta$ C) для одинаковых сигналов варьируется от ~1 до ~300 Гц, причем они малы для атомов в положениях 1–15, и значительны для атомов в положениях 16–34.

Приведенные выше данные ЯМР и тандемной масс-спектрометрии доказывают, что изомеры 1 и 2, содержащиеся в образце бромополигомицина **3** (Таблица 1), не являются смесью геометрических изомеров. Соединения присутствуют в смеси в практически равных

Таблица 1. Спектры ^1H и ^{13}C ЯМР 33-(R,S)-бромо-33-дезоксиполигомицина А (3).

Атом углерода	Химические сдвиги сигналов, м.д.				$\Delta \delta\text{H}^*$, Гц	$\Delta \delta\text{C}^*$, Гц	
	δH		δC				
1	CO(O)	–	–	165.118; 165.138	–	3.0	
2	CH	5.812 д		122.711; 122.734	не разр.	3.3	
3	CH	6.626 дд		148.45	0.5	не разр.	
4	CH(CH ₃)	2.382 м; 2.388 м		40.153; 40.168	3.5	2.4	
5	CH(OH)	3.764 дд; 3.770 дд		72.964; 72.982	3.5	2.7	
6	CH(CH ₃)	2.711 дкв; 2.720 дкв		46.545; 46.612	5.5	10.0	
7	CO	–	–	220.231; 220.250	–	3.0	
8	CH(CH ₃)	2.762 дкв		45.713; 45.755	не разр.	6.3	
9	CH(OH)	3.945 дд; 3.951 дд		72.646; 72.670	(3.6)	3.7	
10	CH(CH ₃)	3.587 дкв; 3.592 дкв		41.945; 41.950	2.7	0.8	
11	CO	–	–	219.883; 219.957	–	11.2	
12	C(OH)(CH ₃)	–	–	82.994; 83.021	–	4.0	
13	CH(OH)	3.928 д	3.936 д	72.398	72.268	4.5	19.7
14	CH(CH ₃)	1.893		33.511; 33.568	(0)	8.8	
15	CH ₂	1.982, 2.181	1.977, 2.176	38.444; 38.483	(3), (3)	5.9	
16	CH	5.445 ддд	5.433 ддд	129.389	129.183	7.15	31.0
17	CH	6.015 ддд	6.007 ддд	132.433	132.582	5.0	22.6
18	CH	5.922 дд	5.930 дд	130.346	130.036	4.8	46.7
19	CH	5.231 дд	5.288 дд	137.737	138.150	34.0	62.4
20	CH(CH ₂)	1.847	1.892	46.058	45.570	(27)	73.5
21	CH ₂	1.408, 1.51	1.408, 1.66	31.80	30.98	(0), (90)	123.7
22	CH ₂	1.058, 1.60	1.100, 1.62	30.897	30.010	(25.2), (12)	133.9
23	CH(O)	3.71 дт	3.83 ддд	69.247	69.128	70.3	18.0
24	CH(CH ₃)	2.115	2.143	35.785	35.297	(16.8)	73.7
25	CH(O)	4.948 дд	4.915 дд	76.043	76.212	19.5	25.7
26	CH(CH ₃)	1.785	1.80	37.640	37.759	(9)	17.9
27	C(O)(O)	–	–	99.137	99.436	–	45.0
28	CH ₂	1.24, 1.895	1.23, 1.895	26.037	26.000	(6), (0)	6.0
29	CH ₂	1.41, 2.09	1.39, 2.13	26.26	26.31	(12), (24)	8.0
30	CH(CH ₃)	1.682	1.594	28.190	30.273	(52.8)	315
31	CH(O)	3.915 дт	3.965 дт	69.200	69.084	(30)	17.5
32	CH ₂	1.76, 2.000	1.67, 1.83	43.83	45.58	(54), (102)	264
33	CH(Br)	4.09 дкв	4.32 дкв	46.98	49.45	141.5	372
34	CH ₃	1.743 д	1.746 д	26.973	27.685	2.0	107.5
35	CH ₃	1.165 д		17.933; 17.960		не разр.	4.15
36	CH ₃	1.054 д; 1.056 д		8.296; 8.320		1.2	3.6
37	CH ₃	1.019 д		9.224; 9.343		не разр.	18
38	CH ₃	1.090 д; 1.097 д		14.018; 14.195		4.2	26.6
39	CH ₃	1.119 с		20.982; 21.045		0.85	9.5
40	CH ₃	0.983 д		14.482; 14.487		не разр.	0.8
41	CH ₂	1.248, 1.356	1.277, 1.363	28.466	28.027	(17.4), (4.2)	66.3
42	CH ₃	0.803 т	0.807 т	12.091	12.204	(2.4)	17.0
43	CH ₃	0.826 д	0.813 д	6.055	5.835	(7.8)	33.3
44	CH ₃	0.951 д	0.939 д	11.816	11.727	7.0	13.5
45	CH ₃	0.870 д	0.883 д	10.794	11.503	(7.8)	107.3

* $\Delta\delta\text{H}$ и $\Delta\delta\text{C}$ – разность величин хим. сдвигов для одинаковых атомов ^1H и ^{13}C ЯМР-спектров диастереомеров 3. Для ^1H -спектра, разности, приведённые без скобок, получены непосредственно из спектра, а в скобках – вычисленные из 2D спектров.

Таблица 2. Сравнительное исследование антиактиномикозной активности 33-(*R,S*)-бромо-33-дезоксиполимицина А (3) и олигомицина А (1) в отношении *S. fradiae* ATCC-19069 и *S. albus* ATCC-21132.

Вещество		33-(<i>R,S</i>)-Бромо-33-дезоксиполимицин А (3)		Олигомицин А (1)	
Концентрация, нмоль/диск*		0.5	5.0	0.001	0.01
Зона ингибирования роста, мм	<i>S. fradiae</i>	7.5±0.5	14±0.3	10.0±0.3	19.0±0.5
	<i>S. albus</i>	–	7.5±0.3	–	10.5±0.5

*диаметр диска 7 мм.

количествах и отличаются только конфигурацией связи С-Вг при атоме 33-С, для которого разницы химических сдвигов максимальны. Следовательно, отличаясь только пространственным расположением заместителя (Вг), изомеры 1 и 2 представляют собой смесь диастереомеров по положению С-33.

Антиактиномикозная активность 33-бромо-33-дезоксиполимицина (3) в сравнении с олигомицином А (1) была изучена с помощью разработанной ранее тест-системы^[9] на штаммах актинобактерий (патогенов, являющихся возбудителями актиномикозов): *Streptomyces fradiae* ATCC-19069 (штамм, сверхчувствительный к олигомицину А и его производным) и *Streptomyces albus* ATCC-21132 (Таблица 2). Сравнение зон подавления тест-культур бромоолигомицином (3) с олигомицином А показывает, что замена гидроксигруппы антибиотика в положении С33 на атом брома снижает антибактериальную активность олигомицина А практически в 500 раз (Таблица 2).

Заключение

Разработан метод синтеза нового производного олигомицина А – 33-(*R,S*)-бромо-33-дезоксиполимицина А (3), который получен в виде смеси двух диастереомеров. Исследование актиномикозных свойств соединения 3, показывает, что замещение 33-гидроксигруппы на атом брома в боковой цепи олигомицина А приводит

к значительному снижению активности в отношении тест-культур *S. fradiae* и *S. albus*. Эти данные подтверждают вывод о важности 33-гидроксигруппы олигомицина в механизме действия олигомицина А.^[4]

Благодарность. Работа выполнена при финансовой поддержке Российского научного фонда (соглашение №15-15-00141).

Список литературы

References

1. Smith R.M., Peterson W.H., McCoy E. *Antibiot. Chemother.* **1954**, 4, 962–970.
2. Bibikova M.V., Grammatikova N.E., Kabanov A.E., et al. *Antibiot. Khimioter.* **2003**, 48, 33–39 (in Russ.).
3. Jonckere A.L., Speitink J.A.M., Rodenburg R.J.T. *J. Inherit. Metab. Dis.* **2012**, 35, 211–225.
4. Symersky J., Osowski D., Walters D.E., et al. *PNAS* **2012** 109(35), 13961–13965.
5. Sladojevich F., Arlow S.I., Tang P., Ritter T. *J. Am. Chem. Soc.* **2013**, 135, 2470–2473.
6. Lysenkova L.N., Turchin K.F., Korolev A.M., et al. *Bioorg. Med. Chem.* **2013**, 21, 2918–2924.
7. Lysenkova L.N., Godovikov I.A., Korolev A.M. *Macroheterocycles* **2015**, 8, 424–428.
8. Landini D., Quici S., Rolla F. *Synthesis* **1975**, 7, 430–431.
9. Alekseeva M.G., Elizarov S.M., Bekker O.B., et al. *Biochem. Cell Biol., Biochemistry (Moscow) Suppl.* **2009**, 3–16.

Received 07.04.2016

Accepted 16.06.2016