

Синтез и биологические свойства 7(7,11)–гидропроизводных олигомицина А

О. А. Омельчук,^{a,b@1} Л. Н. Лысенкова,^a Н. М. Белов,^a А. М. Королев,^a
Л. Г. Деженкова,^a Н. Э. Грамматикова,^{a,c} О. Б. Беккер,^d В. Н. Даниленко,^d
А. Е. Щекотихин^{a,b@2}

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

^bРоссийский химико-технологический университет имени Д.И. Менделеева, 125047 Москва, Российская Федерация

^cПервый Московский государственный медицинский университет имени И.М. Сеченова, 119991 Москва, Российская Федерация

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

@¹E-mail: omelchuk.93@mail.ru

@²E-mail: shchekotikhin@mail.ru

Найдены методы регио- и стереоселективного восстановления карбонильных групп олигомицина А (1). При действии триацетоксиборгидрида натрия в уксусной кислоте на исходный антибиотик 1 образуется (7S)-дигидроолигомицин А (2), дальнейшее восстановление которого боргидридом натрия в этаноле дает (7S,11R)-7,11-тетрагидроолигомицин А (3). Структура полученных производных 2, 3 доказана методами ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Исследованы антимикробные свойства и антипролиферативная активность новых производных в сравнении с исходным антибиотиком. Показано, что восстановление карбонильных групп олигомицина А приводит к снижению активности производных 2, 3 в отношении всех протестированных культур за исключением линии клеток миелоидной лейкемии человека К-562 и ее сублинии с множественной лекарственной устойчивостью К-562/4. Биологическая активность (7S,11R)-7,11-тетрагидроолигомицина А незначительно отличается от активности (7S)-дигидроолигомицина А, что говорит о большем влиянии кето-группы в положении 7, чем в положении 11 на антибиотические свойства.

Ключевые слова: Макролидные антибиотики, олигомицин А, (7S)-дигидроолигомицин А, (7S,11R)-7,11-тетрагидроолигомицин А, полусинтетические производные, боргидридное восстановление, противогрибковая активность, анти-актиномикозная активность, антипролиферативная активность, ингибитор АТФ-синтазы.

Synthesis and Biological Activity of 7(7,11)–Hydroderivatives of Oligomycin A

Olga A. Omelchuk,^{a,b@1} Lyudmila N. Lysenkova,^a Nikita M. Belov,^a
Alexander M. Korolev,^a Lyubov G. Dezhenkova,^a Natalia E. Grammatikova,^{a,c}
Olga B. Bekker,^d Valery N. Danilenko,^d and Andrey E. Shchekotikhin^{a,b@2}

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

^bMendeleev University of Chemical Technology of Russia, 125047 Moscow, Russian Federation

^cSechenov First Moscow State Medical University, 119991 Moscow, Russian Federation

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

@¹Corresponding author E-mail: omelchuk.93@mail.ru

@²Corresponding author E-mail: shchekotikhin@mail.ru

Macrolide antibiotics represent a valuable class of broad-spectrum, high active natural compounds with polyketide structure. A well-known F_0F_1 ATP-synthase inhibitor,^[1] namely oligomycin A (1), is a 26-membered α,β -unsaturated

polyketide lactone with conjugated diene, fused to spiroketal moiety. Oligomycin A possesses strong antifungal, antiactinomycotic and cytotoxic activity, but lacks antibacterial activity. According to recent investigations, the development of anti-cancer drugs based on oligomycin A is quite perspective due to its high cytotoxic activity toward tumor cells, ability to inhibit a multidrug resistance protein p-gp and to prevent an activation of oncogenic K-Ras by inhibition of its localization at the plasma membrane.^[2-4] However, high toxicity for mammalian cells and low water solubility are significant limitations of oligomycin A, making it unacceptable for clinical application. Chemical modification is a promising way to improve pharmacological properties of natural compounds. Recently we have found that site-selective modifications of oligomycin A afforded semi-synthetic derivatives with high antiproliferative activity against tumor cell lines^[5-7] or selective antifungal activity against *Candida* spp.^[8] and, at the same time, with lower toxicity toward mammalian cells. Also, semi-synthetic oligomycin A derivatives are useful tools for molecular genetic studies of additional targets for this family of antibiotics.^[9,10] Previously Ramirez F. *et al.* have described the reaction of oligomycins with sodium borohydride resulting in mixture of diastereomeric 7-dihydro- and 7,11-tetrahydro derivatives without further separation and characterization of individual products.^[11] Also, there is no data on biological activity of these reduced oligomycins against fungal/actinomycetes strains and tumor cell lines in article mentioned above. Thus, in this paper we report regio- and stereoselective methods for borohydride reduction of oligomycin A, structure determination of obtained derivatives and investigation of theirs antiproliferative, antifungal and antiactinomycotic properties. The feasibility of regio- and stereoselective reduction of C7-carbonyl group in a core structure of oligomycin A was proposed due to the presence of haptophilic hydroxyl groups^[12] at C5 and C9 positions and sterical hindrance of C-11 carbonyl group. Actually, treatment of oligomycin A with bulky sodium triacetoxyborohydride in acetic acid according to the method^[13] led to (7S)-dihydrooligomycin A (**2**) in a good yield. The second carbonyl group (C-11) reduced in more harsh conditions: only the extended treatment of (7S)-dihydrooligomycin A with sodium borohydride in ethanol give (7S,11R)-7,11-tetrahydrooligomycin A (**3**) as major product. Reaction proceeds with acceptable stereoselectivity and gives tetrahydro derivative **3**, but in low yield (35 %), which associated with low stability of oligomycins in basic conditions.^[14] Structure of compounds **2** and **3** was confirmed by high resolution mass spectrometry (HRMS ESI) and NMR spectroscopy. Absolute configurations at C7 and C11 positions of obtained derivatives were unambiguously confirmed by observed interactions between neighboring protons in corresponding ¹H-¹H ROESY spectra. Testing of antimicrobial properties of oligomycins **2** and **3** against *Candida* spp., filamentous fungi and *S. fradiae* (strain, extremely sensitive to oligomycins) that of the parent antibiotic in comparison with starting oligomycin A revealed that reduction of carbonyl groups led to decreasing of activity (except strain *M. canis*). Also, reduced derivatives **2**, **3** were less potent against human colon carcinoma cell line HCT116 and its doxorubicin-resistant subline HCT116(-/-), while activity against leukemia cell line K562 and doxorubicin-resistant subline K562/4 retained at the same level as for **1**. It might be pointed that biological properties of (7S)-dihydrooligomycin A and (7S,11R)-7,11-tetrahydrooligomycin A are quite similar; consequently C7-carbonyl group has a greater influence on biological activity of oligomycin A than C-11 carbonyl group.

Keywords: Macrolide antibiotics, oligomycin A, (7S)-dihydrooligomycin A, (7S,11R)-7,11-tetrahydrooligomycin A, semi-synthetic derivatives, borohydride reduction, antifungal activity, anti-actinomycotic activity, antiproliferative activity, ATP-synthase inhibitor.

Введение

Макролидные антибиотики представляют собой важный класс поликетидных метаболитов, обладающих широким спектром биологической активности. Олигомицин А (**1**) относится к подклассу макролидов, основной механизм действия которых связан с ингибированием АТФ-синтаз и нарушением энергетического обмена. Действуя на митохондриальную F₀F₁ АТФ-синтазу эукариот, олигомицин А проявляет выраженную цитотоксическую и антифунгальную активность. Он также ингибирует цитоплазматический комплекс F₀F₁ АТФ-синтазы актинобактерий, однако практически не проявляет активности в отношении мембраносвязанной АТФ-синтазы бактерий.^[1] Согласно литературным данным, олигомицин А перспективен для разработки новых противоопухолевых препаратов. Так, результаты скрининга антипролиферативной активности библиотеки из более чем 37000 цитотоксических веществ показали, что олигомицин А входит

в выборку из 40 соединений, обладающих наибольшей селективностью в отношении злокачественных линий клеток человека NCI-60.^[2] Олигомицин А также способен ингибировать работу Р-гликопротеина,^[3] что позволяет ему преодолевать р-gp опосредованную множественную лекарственную устойчивость (МЛУ) опухолевых клеток. Недавние исследования показали, что олигомицин А ингибирует активацию онкогенных RAS-белков, блокируя их связывание с плазматической мембраной.^[4] Недостатками этого природного антибиотика, препятствующими его применению в качестве лекарственного препарата, являются сравнительно низкий терапевтический индекс и низкая растворимость в воде. Кроме того, к настоящему времени полная картина механизма биологического действия олигомицина А в клетках про- и эукариот остается невыясненной. Химическая модификация является одним из традиционных путей улучшения фармакологических свойств биологически активных веществ. Ранее были описаны производные олигомицина А со сниженной токсично-

стью и выраженной антипролиферативной^[5-7] и антикандидозной^[8] активностями. Полусинтетические производные олигомицина А также позволили выявить ряд новых внутриклеточных мишеней для химиотерапии.^[9,10]

Ранее было описано неселективное восстановление кетогрупп в 7 и 11 положении олигомицина D и смеси олигомицинов А, В и С действием NaBH_4 в спирте.^[11] Биохимические исследования смеси энантиомеров 7-дигидро- и 7,11-тетрагидроолигомицина D показали, что восстановленные производные сохранили способность к ингибированию АТФ-синтазы. Однако, восстановленные олигомицины не были выделены в виде индивидуальных соединений, а также не было проведено исследование антибиотических свойств полученных продуктов. В продолжение работ по исследованию реакций восстановления олигомицина А^[8] и биологических свойств его производных нами разработаны методики регио- и стереоселективного восстановления олигомицина А, однозначно установлена структура полученных индивидуальных продуктов и проведен скрининг их биологической активности.

Экспериментальная часть

Химическая часть

Олигомицин А (чистота 95 %), продуцируемый штаммом *Streptomyces avermitilis* NIC B62, получен в АНКО «БИОАН» (Москва, Российская Федерация). Реагенты и растворители производства Sigma-Aldrich. Для аналитической ТСХ использовались алюминиевые пластинки с закрепленным слоем силикагеля F_{254} толщиной 0.2 мм (Merck); для колоночной хроматографии использовался силикагель 60 (Merck). Соединения обнаруживали в УФ-свете (254 нм), проявляли на ТСХ-пластинах при нагревании реактивом, содержащим 4.5 % (об.) анисового альдегида, 3.0 % (об.) концентрированной серной кислоты, 1.5 % (об.) ледяной уксусной кислоты в EtOH.

Аналитическую ВЭЖХ выполняли с использованием хроматографа Shimadzu LC-20 AD (Shimadzu Corporation) на колонке Kromasil-100-C18 размером (4×250 мм, 5 мкм) (Knauer, Германия). Объем петли инжектора – 20 мкл. Детектирование осуществляли при длине волны 230 нм. Элюирование проводили в течение 40 мин системой $\text{MeCN}-\text{H}_2\text{O}$: 10 мин – градиентный режим (содержание MeCN для соединения 2: 80 → 95 %, для соединения 3: 70 → 85 %), 30 мин – изократический режим (содержание MeCN для соединения 2 – 95 %; для соединения 3 – 85 %), скорость потока – 1 мл/мин. Чистоту соединений определяли по площади пиков, используя метод внутренней нормализации.

Спектры ЯМР (Рисунки Д11–Д14, см. дополнительные материалы) регистрировались на спектрометре «Avance III» фирмы «Bruker» с резонансной частотой на ядрах ^1H и ^{13}C 600 и 150 MHz, соответственно. В качестве растворителя использовали дейтерированный метанол фирмы «Merck». Химические сдвиги ядер измеряли при 25 °С, используя в качестве внутреннего стандарта остаточные сигналы растворителя (3.31 м.д. для ^1H и 49.2 м.д. для ^{13}C).

Масс-спектры высокого разрешения ESI (Рисунки Д15, Д16, см. дополнительные материалы) регистрировали на приборе «micrOTOF-Q II» («Bruker Daltonics GmbH», Германия). Растворы образцов (0.1 мг/мл в смеси CHCl_3 и EtOH или в смеси MeCN и H_2O) прямо вводили в ESI-источник

с помощью шприцевого насоса со скоростью потока 3 мкл/мин и анализировали положительно и отрицательно заряженные ионы при следующих условиях детектирования: напряжение на капилляре 4 кВ, давление азота в небулайзере 0.4 Бар (5.8 psi), скорость потока осушающего газа 4.0 л/мин и температура источника 180 °С. Для измерений использовали растворители с содержанием более 98 %, предназначенные для LC-MS.

ИК-спектры (Рисунки Д17, Д18, см. дополнительные материалы) регистрировали с использованием ИК-Фурье спектрометра Nicolet-iS10 (детектор DTGS, светоделиитель KBr) с приставкой Smart Performer, оснащенной ZnSe кристаллом (Nicolet, Madison, WI, USA). Измерение проводили при разрешении 4 cm^{-1} ; зона спектра 4000–650 cm^{-1} . Спектр обрабатывали с использованием программы OMNIC-7.0. УФ-спектр регистрировали на двухлучевом спектрофотометре UNICO-2804 (UNICO, Dayton, NJ, USA).

Синтез (7S)-дигидроолигомицина А (2). К раствору олигомицина А (100 мг, 0.13 ммоль) в уксусной кислоте (5 мл) прибавляют $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ (55 мг, 0.26 ммоль) и перемешивают 1 ч. Реакционную смесь разбавляют водой и экстрагируют продукт этилацетатом (2×40 мл), промывают последовательно раствором (10 %) гидрокарбоната натрия и водой до нейтральной реакции. Экстракт сушат безводным сульфатом натрия, фильтруют и упаривают. Остаток очищают колоночной хроматографией (гексан:ацетон 10:3.8 → 10:4.4). Выход производного 2 – 90 мг (90 %). Аморфный бесцветный порошок. Т.пл. 95–96 °С. m/z (ESI) Найдено: 827.5566 (100 %) $[\text{M}+2\text{H}_2\text{O}-\text{H}]^+$. $\text{C}_{45}\text{H}_{70}\text{O}_{13}$. Вычислено: 827.5521. ИК (пленка) ν_{max} cm^{-1} : 3351 с, 2972 с, 2921 с, 2872 с, 1699 с, 1640 с, 1457 с, 1384 с, 1282 с, 1224 с, 1192 с, 1164 с, 1136 с, 1086 с, 1047 с, 984 с, 916 с, 880 с, 845 с, 805 с, 691 с. УФ (метанол) λ_{max} (lgε) нм: 224 (3.7), 233 (3.6), 242 (3.4). ВЭЖХ R_f 9.5, чистота 95 %.

Синтез (7S,11R)-7,11-тетрагидроолигомицина А (3). К раствору (7S)-дигидроолигомицина А (2, 80 мг, 0.10 ммоль) в этаноле (8 мл) добавляют NaBH_4 (15 мг, 0.40 ммоль) и перемешивают 24 ч. Растворитель отгоняют в вакууме, продукт экстрагируют этилацетатом (2×30 мл), промывают последовательно раствором (5 %) соляной кислоты и водой до нейтральной реакции. Экстракт сушат безводным сульфатом натрия, фильтруют и упаривают. Остаток очищают колоночной хроматографией (элюент: этилацетат, система элюентов: хлороформ:ацетон 4:1 → хлороформ:ацетон:метанол 4:1.7:0.05). Выход производного 3 – 28 мг (35 %). Аморфный бесцветный порошок. Т.пл. 91–92 °С. m/z (ESI) Найдено: 817.5459 (100 %) $[\text{M}+\text{Na}]^+$. $\text{C}_{45}\text{H}_{78}\text{O}_{11}\text{Na}$. Вычислено: 817.5436. ИК (пленка) ν_{max} cm^{-1} : 3352 с, 2973 с, 2932 с, 2878 с, 1699 п., 1642 с, 1456 с, 1381 с, 1277 с, 1225 с, 1192 с, 1162 с, 1135 с, 1087 с, 1046 с, 985 с, 917 с, 880 с. УФ (метанол) λ_{max} (lgε) нм: 225 (3.5), 234 (3.4), 243 (3.2). ВЭЖХ R_f 13.5, чистота 94.8 %.

Биологическая часть

Методики тестирования антифунгальной, антипролиферативной и антибактериальной активностей использовали те же, что и в работе.^[6]

Результаты и их обсуждение

Синтез производных олигомицина

В структуре олигомицина А присутствуют две кето-группы (C7 и C11), потенциально способные к восстановлению. Анализ окружения показывает, что карбонильная группа в положении 11 более экранирована

заместителями при C12, по сравнению с C7-кетогруппой, очевидно, что применение стерически затрудненных боргидридов может позволить провести восстановление региоселективно. Кроме того, важно отметить, что в β -положениях к C7-карбонильной группе (в положениях 5 и 9) находятся две гаптофильные гидроксильные группы, что открывает возможности для ее стереоселективного *анти*-восстановления триацетоксиборгидридом натрия.^[12] Конфигурация стереоцентров C5 и C9 в структуре олигомицина А такова, что связанные с ними гидроксигруппы согласованно направляют присоединение гидрид-иона к C7-кетогруппе сверху от плоскости макроцикла. Действительно, взаимодействие олигомицина А с $\text{NaBH}(\text{OAc})_3$ в уксусной кислоте по методу^[13] протекает регио- и стереоселективно, давая (7*S*)-дигидроолигомицин А (2) с высоким выходом (Схема 1).

Стерические препятствия C11-карбонильной группы значительно понижают ее реакционную способность к восстановлению боргидридами. Трансформацию (7*S*)-дигидроолигомицина 2 до соответствующего гидроксильного производного мягкими восстановителями провести не удалось. Так, производное 2 устойчиво к действию триацетоксиборгидрида и цианборгидрида натрия при нагревании в уксусной кислоте. Восстановление карбонильной группы в 11 положении 7-дигидроолигомицина 2 удалось провести боргидридом натрия в этаноле. Реакция протекает с приемлемой стереоселективностью и дает в качестве основного продукта (7*S*,11*R*)-7,11-тетрагидроолигомицин А (3) с выходом 35 % (Схема 1). Низкий выход производного 3 связан с длительным выдерживанием реакционной смеси в слабощелочных условиях, в которых исходный антибиотик довольно лабилен из-за ретро-альдольного расщепления β -гидроксикарбонильных фрагментов.^[14] Образование *син*-аддукта в этой реакции восстановления объясняется, вероятно, тем, что переходное состояние соответствует модели Фелкина, в которой положение C12 выполняет роль объемного заместителя, а присоединение гидрид-иона осуществляется со стерически менее затрудненной стороны – снизу от плоскости макроцикла.

Строение производных 2, 3 установлено методами масс-спектрометрии и ЯМР-спектроскопии. В масс-спектре высокого разрешения (HRMS ESI) соеди-

нения 2 наблюдается сигнал m/z 827.5566 $[\text{M}-\text{H}+2\text{H}_2\text{O}]^-$ (Рисунок Д15, см. дополнительные материалы), соответствующий расчетному значению молекулярной массы дигидроолигомицина А ($[\text{C}_{45}\text{H}_{76}\text{O}_{11}-\text{H}+2\text{H}_2\text{O}]^-$ 827.5526). Наблюдаемый пик в спектре HRMS ESI соединения 3 (m/z 817.5459 $[\text{M}+\text{Na}]^+$) (Рисунок Д16, см. дополнительные материалы) также соответствует расчетному значению молекулярной массы тетрагидроолигомицина А ($[\text{C}_{45}\text{H}_{78}\text{O}_{11}\text{Na}]^+$ 817.5436). Для (7*S*)-дигидроолигомицина А (2) и (7*S*,11*R*)-7,11-тетрагидроолигомицина А (3) зарегистрированы спектры ЯМР ^1H и ^{13}C , а также корреляционные спектры ЯМР ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^1H ROESY, ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC (Рисунки Д1-Д14, см. дополнительные материалы). В спектре ^1H (7*S*)-дигидроолигомицина (2) наблюдается дополнительный сигнал атома водорода в положении 7 ($\delta_{\text{H}}-7 - 3.70$ м.д.), а в спектре ЯМР ^{13}C – значительное смещение сигнала атома углерода в положении 7 в сильное поле ($\delta_{\text{C}}-7 - 80.4$ м.д.) по сравнению с исходным антибиотиком ($\delta_{\text{C}}-7 - 220.2$ м.д.), что свидетельствует о восстановлении карбонильной группы в положении 7. Аналогичные изменения наблюдаются в спектрах ЯМР производного 3: появление нового ^1H сигнала в положении 11 ($\delta_{\text{H}}-11 - 3.58$ м.д.) и смещение сигнала C-11 в спектре ЯМР ^{13}C в сторону сильного поля ($\delta_{\text{C}}-11 - 82.2$ м.д.) по сравнению с исходным антибиотиком ($\delta_{\text{C}}-11 - 219.9$ м.д.). Соотнесение сигналов для производных 2 и 3 выполнено на основании анализа спектров ЯМР ^1H , ^{13}C , ^1H - ^{13}C HSQC, ^1H - ^{13}C HMBC, ^1H - ^1H COSY, ^1H - ^1H ROESY (Таблица 1). Анализ спектра ^1H - ^1H ROESY (7*S*)-дигидроолигомицина 2 показал пространственное сближение протонов H38-H7, H37-H7, H36-H7, H8-H6, H6-H4 (Рисунок 1) на основании чего была однозначно установлена конфигурация нового асимметрического центра в положении 7. Аналогично определена конфигурация положения 11 в 7,11-тетрагидроолигомицине А 3: на полученном спектре ^1H - ^1H ROESY наблюдались корреляции между протонами H39-H11, H9-H11 и H11-H13 (Рисунок 1).

Биологические исследования

Изучение биологических свойств восстановленных производных олигомицина А 2, 3 в сравнении с олигомицином А (1) было проведено в отноше-

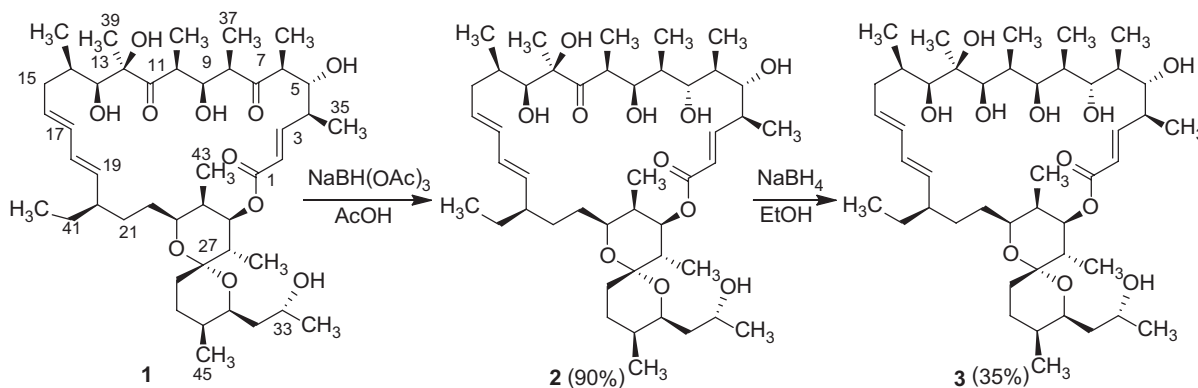
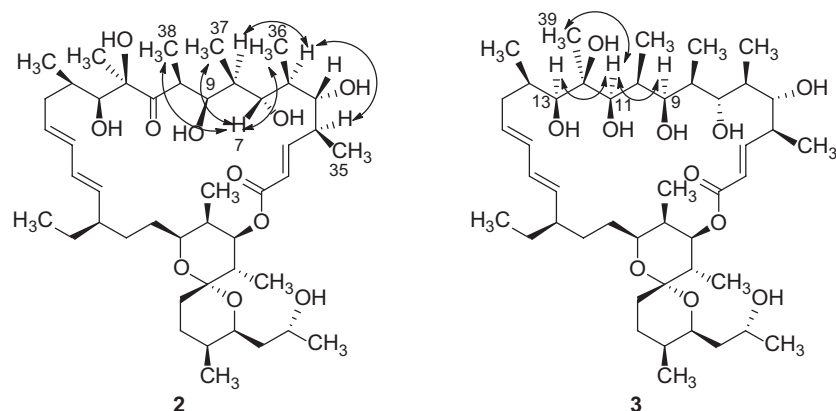


Схема 1. Синтез (7*S*)-дигидроолигомицина А (2) и (7*S*,11*R*)-7,11-тетрагидроолигомицина А (3).

Рисунок 1. Некоторые корреляции в спектрах ^1H - ^1H ROESY производных **2** и **3**.Таблица 1. Спектры ^1H и ^{13}C ЯМР олигомицина А (**1**) и его производных **2** и **3**.

Поз.	Тип	Олигомицин А (1)		(7S)-Дигидроолигомицин (2)		(7S,11R)-Тетрагидроолигомицин (3)	
		δ_c , м.д.	δ_H , м.д., мульт. (J в Hz)	δ_c , м.д.	δ_H , м.д., мульт. (J в Hz)	δ_c , м.д.	δ_H , м.д., мульт. (J в Hz)
1	2	3	4	5	6	7	8
1	O=CO	165.0	—	167.5	—	167.3	—
2	CH	122.6	5.80, дд (15.6, 0.7)	123.2	5.85, д (15.6)	122.9	5.83, д (15.7)
3	CH	148.3	6.62, дд (15.6, 10.1)	151.8	6.94, дд (15.6, 8.8)	152.5	6.76, дд (15.7, 9.5)
4	CH	40.1	2.36, ткр (10.0, 6.6)	43.8	2.48, ткр (8.8, 7.0)	42.6	2.50, ткр (9.5, 6.5)
5	CH	72.9	3.75, дд (10.1, 1.3)	81.9	3.68, дд (9.0, 1.3)	80.0	3.50, д (9.5)
6	CH	46.4	2.70, дкр (1.3, 7.4)	36.6	1.88, кр (7.0, 1.3)	38.3	1.87, м
7	C=O	220.2	—	80.4	3.70, дд (9.0, 1.3)	79.4	3.66, дд (6.8, 2.4)
8	CH	41.9	3.59, дкр (8.6, 6.9)	40.4	1.40, дд (7.4, 1.1, 9.3)	41.4	1.78, м
9	CH	72.6	3.94, дд (8.6, 3.1)	74.7	3.66, дд (10.0, 1.1)	73.8	4.00, дд (3.8, 2.0)
10	CH	45.6	2.74, дкр (3.0, 7.1)	43.5	3.75, кр (10.0, 6.9)	37.7	2.07, м
11	C=O	219.9	—	222.7	—	82.2	3.58, д (3.5)
12	C-O	82.9	—	84.2	—	78.2	—
13	CH	72.2	3.89, д (1.9)	74.0	3.80, д (1.4)	72.9	3.78 (ушир. с)
14	CH	33.4	1.88, м	35.2	1.82, м	35.4	1.87, м
15	CH ₂	38.3	2.17, бд; 1.98 дт	39.9	2.02, м; 2.11, м	40.2	2.06, м; 2.20, м
16	CH	129.3	5.42, дд (14.8, 10.5, 4.1)	131.7	5.45, дд (14.9, 10.4, 4.0)	132.5	5.51, дд (15.0, 10.4, 4.7)
17	CH	132.3	6.00, дд (14.7, 10.4, 1.4)	134.1	6.11, дд (14.9, 10.4, 1.2)	133.5	6.07, дд (15.0, 10.4, 1.2)
18	CH	130.2	5.90, дд (14.9, 10.5)	132.8	6.01, дд (15.1, 10.4)	133.0	5.99, дд (15.0, 10.4)
19	CH	137.7	5.21, дд (14.8, 9.6)	138.1	5.20, дд (14.9, 9.7)	137.2	5.20, дд (15.0, 9.1)
20	CH	45.9	1.85, м	47.6	1.88, м	45.0	2.04, м
21	CH ₂	31.4	1.52, м; 1.35, м	32.9	1.04, м; 1.63, м	31.3	1.32, м; 1.61, м
22	CH ₂	30.9	1.59, дд	32.5	1.04, м; 1.63, м	30.9	1.30, м; 1.57, м
23	CH	68.9	3.78, дд (9.8, 2.7, 2.4)	70.2	3.85, м	69.1	3.87, м
24	CH	35.7	2.11, дкр (5.0, 2.2, 6.9)	37.8	1.97, м	37.6	1.89, м
25	CH	76.1	4.91, дд (11.4, 5.0)	77.7	5.00, дд (11.4, 4.5)	77.3	5.06, дд (11.5, 5.0)
26	CH	37.6	1.78, дкр (11.4, 6.6)	39.3	1.76, дкр (11.4, 6.5)	39.5	1.78, м
27	OCO	99.1	—	100.5	—	100.6	—
28	CH ₂	25.9	1.90, м; 1.23, м	27.1	1.20, м; 1.96, м	27.2	1.22, м; 1.96, м

Продолжение таблицы 1.

1	2	3	4	5	6	7	8
29	CH ₂	26.4	2.07, м; 1.38, м	27.9	1.40, м; 2.16, м	27.8	1.44, м; 2.15, м
30	CH	30.4	1.54, м	40.0	1.33, м	31.8	1.60, м
31	CH	67.1	3.96, дт (10.3, 2.5)	68.7	4.04, дт (10.0, 2.7)	69.6	3.97, дт (9.0, 3.0)
32	CH ₂	42.4	1.55, м; 1.25 м	43.8	1.32, м; 1.55, м	44.0	1.45, м; 1.58, м
33	CH	64.6	4.00, ддкв (9.2, 3.1, 6.2)	65.2	3.97, м	66.0	3.93, м
34	CH ₃	24.6	1.21, д (6.2)	25.2	1.21, д (6.4)	25.1	1.24, д (6.1)
35	CH ₃	17.8	1.16, д (6.6)	18.0	1.15, д (7.0)	17.7	1.14, д (6.6)
36	CH ₃	8.2	1.05, д (7.3)	5.6	0.76, д (7.0)	6.4	0.91, д (7.0)
37	CH ₃	9.2	1.01, д (7.0)	9.4	0.99, д (7.2)	11.4	1.00, д (6.8)
38	CH ₃	14.0	1.09, д (6.9)	15.3	1.12, д (6.9)	15.9	1.06, д (6.9)
39	CH ₃	20.9	1.11, с	22.2	1.07, с	19.5	1.06, с
40	CH ₃	14.4	0.98, д (6.6)	15.6	1.01, д (7.4)	15.7	1.00, д (6.7)
41	CH ₂	28.4	1.35, м; 1.25, м	30.0	1.28, м; 1.44, м	29.4	1.27, м; 1.45, м
42	CH ₃	12.0	0.80, т (7.4)	12.3	0.86, т (7.6)	12.3	0.86, т (7.4)
43	CH ₃	6.0	0.82, д (6.9)	7.4	0.89, д (7.0)	6.7	0.83, д (7.0)
44	CH ₃	11.7	0.95, д (6.6)	12.7	0.97, д (6.5)	12.3	0.94, д (6.6)
45	CH ₃	11.1	0.88, д (6.9)	11.7	0.93, д (6.9)	11.7	0.94, д (7.1)

нии различных тест-культур: патогенных и условно-патогенных штаммов грибов, штамма *Streptomyces fradiae*, сверхчувствительного к олигомицину А и его производным, а также в отношении линий опухолевых клеток человека, в том числе доксорубин-резистентных сублиний, обладающих множественной лекарственной устойчивостью. Результаты скрининга противогрибковой активности олигомицинов **1–3** представлены в Таблице 2. Обнаружено, что восстановление как одной (С7) карбонильной группы, так и обеих кетогрупп олигомицина А приводит к потере активности производных **2, 3** в отношении штаммов дрожжеподобных грибов *C. albicans* и *C. parapsilosis*

и к двукратному снижению активности в отношении клинического изолята *C. krusei*. В сравнении с исходным антибиотиком **1** (7S)-дигидроолигомицин (**2**) и (7S,11R)-тетрагидроолигомицин А (**3**) оказались менее активны в отношении микромицетов, за исключением штамма *M. canis*. Примечательным является тот факт, что восстановление С=С связей приводит к тому, что 2,3,16,17,18,19-пергидроолигомицин,^[8] напротив, обладает только анти-кандидозным действием и неактивен в отношении других тест-культур. Таким образом, модификация отдельных фрагментов макроцикла олигомицина А позволит модулировать спектр противогрибковой активности производных.

Таблица 2. Противогрибковая активность олигомицина А (**1**) и его производных **2, 3**.

Соединение	МИК, мкг/мл					
	<i>C. albicans</i> ATCC 24433	<i>C. parapsilosis</i> ATCC 22019	<i>C. krusei</i> 432M	<i>A. niger</i> 137a	<i>M. canis</i> B 200	<i>T. rubrum</i> 2002
Олигомицин А	4	16	2	0.25	8	1
(7S)-дигидроолигомицин А (2)	>32	>32	4	2	8	8
(7S,11R)-7,11-тетрагидроолигомицин А (3)	>32	>32	4	4	8	8

Таблица 3. Активность олигомицина А (**1**) и его производных **2, 3** в отношении *S. fradiae* ATCC-19609.

Соединение	МИК, нмоль/диск*
Олигомицин А	0.001
(7S)-дигидроолигомицин А (2)	0.1
(7S,11R)-7,11-тетрагидроолигомицин А (3)	1.0

*Диаметр диска 7 мм

Исследование антиактиномикозной активности олигомицинов **1–3** на отобранной ранее тест-культуре *S. fradiae* ATCC-19609^[15] (Таблица 3) показало, что восстановление С7-кетогруппы приводит к снижению антимикробной активности производного **2** на два порядка, а последующее восстановление второй, С11-кетогруппы, снижает активность производного **3** на три порядка по сравнению с исходным антибиотиком.

Исследование антипролиферативной активности новых производных **2, 3** и олигомицина А (**1**) про-

Таблица 4. Антипролиферативная активность олигомицина А (1) и его производных 2, 3.

Соединение	IC ₅₀ , мкМ			
	K562	K562/4	HCT116	HCT116(-/-)
Олигомицин А	0.20±0.03	7.1±0.8	1.6±0.2	4.3±0.6
(7S)-дигидроолигомицин А (2)	0.15±0.02	6.0±0.7	5.5±0.8	7.1±1.0
(7S,11R)-7,11-тетрагидроолигомицин А (3)	0.25±0.04	5.8±0.8	4.1±0.5	7.0±0.9

ведено на клетках миелоидной лейкемии человека K562, клетках аденокарциномы кишки HCT116 и их сублиний с различными механизмами множественной лекарственной устойчивости K562/4 и HCT116(-/-) (Таблица 4). В отношении аденокарциномы HCT-116 и ее сублинии HCT116(-/-) активность 7-дигидроолигомицина 2 и 7,11-тетрагидроолигомицина 3 оказалась в 2–3 раза ниже, чем у исходного антибиотика, тогда как активность в отношении клеток лейкемии K562 и ее сублинии K562/4 практически не изменилась.

Выводы

Подобраны условия для регио- и стереоселективного боргидридного восстановления кето-групп олигомицина А (1). В мягких условиях триацетоксиборгидрид натрия восстанавливает С-7 кетогруппу олигомицина А, не затрагивая С-11 положение, давая (7S)-дигидроолигомицин А (2). Восстановление менее реакционноспособной С-11-кето-группы (7S)-дигидроолигомицина А (2) проведено действием боргидрида натрия в этаноле. Основным продуктом при этом является (7S,11R)-7,11-тетрагидроолигомицин А, очевидно, из-за присоединения гидрид-иона с наименее стерически затрудненной стороны. Полученные производные выделены в виде индивидуальных стереоизомеров, структура которых однозначно доказана методами ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии. Изучение биологических свойств (7S)-дигидроолигомицина А (2) и (7S,11R)-тетрагидроолигомицина А (3) показало, что восстановление карбонильных групп олигомицина А приводит к небольшому снижению противогрибковой активности, в то время как антиактиномикозная активность в отношении *S. fradiae* ATCC-19609 снижается в 100 и 1000 раз, соответственно. Восстановленные производные 2, 3 сохраняют высокую антипролиферативную активность для опухолевых клеток человека. Стоит отметить, что биологические свойства (7S,11R)-

7,11-тетрагидроолигомицина А (3) незначительно отличаются от свойств (7S)-олигомицина А (2), что говорит о большем влиянии кето-группы в положении 7, чем в положении 11.

Благодарность. Работа выполнена при частичной финансовой поддержке гранта РФФИ №15-15-00141-П.

References

Список литературы

- Hong S., Pedersen P.L. *Microbiol. Mol. Biol. Rev.* **2008**, 72, 590–641.
- Salomon A.R., Voehringer D.W., Herzenberg L.A. *Chem. Biol.* **2001**, 8, 71–80.
- Li Y.C., Fung K.P. *Chemotherapy* **2004**, 50, 55–62.
- Salim A.A., Tan L., Huang X.-C. *Org. Biomol. Chem.* **2016**, 14, 711–715.
- Lysenkova L.N., Saveljev O.Y., Grammatikova N.E. *J. Antibiot.* **2017**, 70, 871–877.
- Omelchuk O.A., Belov N.M., Tsvetkov V.B. *Macroheterocycles* **2018**, 11, 181–192.
- Kononov A.I., Antipin I.S., Burilov V.A. *Russ. J. Org. Chem.* **2018**, 54, 157–371 [*Zh. Org. Khim.* **2018**, 54, 161–360 (in Russ.)].
- Omelchuk O.A., Belov N.M., Tsvetkov V.B. *Macroheterocycles* **2016**, 9, 453–461.
- Vatlin A.A., Bekker O.B., Lysenkova L.N. *Genetika* **2016**, 52, 723–727 (in Russ.) [*Russ. J. Genetics* **2016**, 52, 630–635].
- Vatlin A.A., Bekker O.B., Lysenkova L.N. *J. Basic Microbiol.* **2018**, 58, 739–746.
- Ramirez F., Marecek J.F., Tu Sh.-I. *Eur. J. Biochem.* **1982**, 121, 275–279.
- Saksena A.K., Mangiaracina P. *Tetrahedron Lett.* **1983**, 24, 273–276.
- Evans D.A., DiMare M. *J. Am. Chem. Soc.* **1986**, 108, 2476–2478.
- Lysenkova L.N., Turchin K.F., Korolev A.M. *J. Antibiot.* **2014**, 67, 153–158.
- Alekseeva M.G., Elizarov S.M., Bekker O.B. *Biochem. Moscow Suppl. Ser. A* **2009**, 3, 16–23.

Received 18.07.2018

Accepted 02.10.2018