



УДК 615.779.931 +

НОВЫЕ ЖЕЛЕЗОСОДЕРЖАЩИЕ АНТИБИОТИКИ

МАСС-СПЕКТРОМЕТРИЧЕСКОЕ ИЗУЧЕНИЕ Co-АНАЛОГА
И ПРОДУКТОВ ВОССТАНОВЛЕНИЯ ВИРИДОМИЦИНА А

Розынов Б. В., Блинова И. Н., Хохлов А. С.]

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

Изучены масс-спектры кобальтового аналога антибиотика виридомицина $A[Co(O_2C_6H_4-2-NO, -4-COH)_3]$, продуктов восстановительного ацетилирования антибиотика (3-ацетиламино-4-ацетоксибензальдегида, 3-диацетиламино-4-ацетоксибензальдегида, 3-ацетилгидроксиламино-4-ацетоксибензальдегида, 3-ацетиламино-4-ацетоксибензилацетата и 3-диацетиламино-4-ацетоксибензилацетата), а также ацетатов *o*- и *p*-амлинофенолов. Установлены основные пути фрагментации этих соединений при электронном ударе и изучено влияние заместителей, стоящих в орто-положении, на распад молекулярных ионов этих соединений.

В предыдущих сообщениях были приведены данные о выделении и физико-химических свойствах виридомицинов А, В и С — новых железосодержащих антибиотиков [1], а также о строении виридомицина А — главного компонента виридомицинового комплекса [2, 3].

При установлении строения виридомицина А широко использовался метод масс-спектрометрии.

Масс-спектр железосодержащего антибиотика виридомицина А не удалось получить из-за низкой летучести и термической нестабильности этого соединения, в то время как его кобальтовый аналог оказался вполне пригодным для масс-спектрометрических исследований [2].

Масс-спектр кобальтового аналога виридомицина А (I) представлен в табл. 1, а на схеме показаны возможные пути его распада при электронном ударе. В масс-спектре кобальтового аналога имеется пик молекулярного иона с m/e 509, что соответствует трем лигандам с M 150 на 1 атом кобальта. Комплекс распадается двумя путями: первый путь распада, наиболее характерный для нитрозосоединений [4], начинается с элиминирования группы NO и образования фрагмента с m/e 479 ($M^+ - 30$). Второй тип фрагментации связан с отщеплением лиганда и образованием фрагментов с m/e 359 ($M^+ - 150$) и 151. Распад фрагмента с m/e 359 и лиганда (фрагмент с m/e 151) происходит также с отщеплением нитрозогруппы, при этом образуются ионы с m/e 329 и 121. Последний фрагмент соответствует *p*-оксибензальдегиду, что было доказано изучением масс-спектра аутентичного соединения.

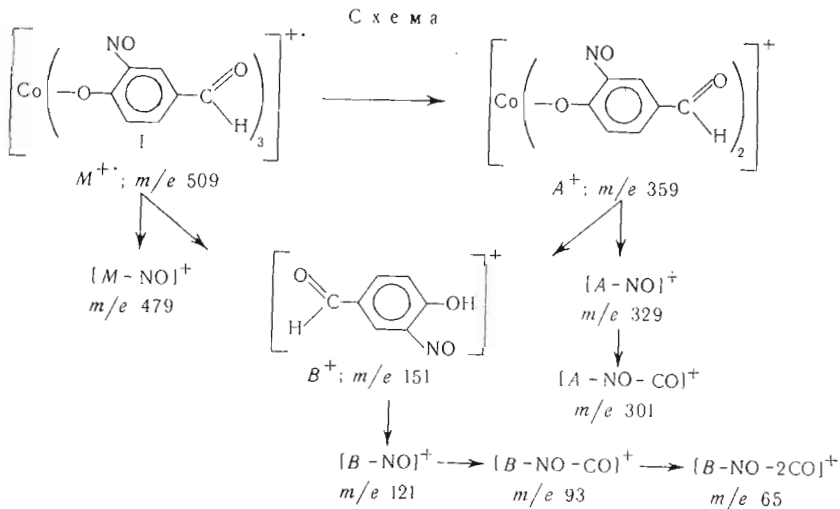
Наряду с масс-спектром кобальтового аналога виридомицина А (I) были изучены масс-спектры продуктов восстановительного ацетилирования антибиотика: 3-ацетиламино-4-ацетоксибензальдегида (II), 3-диацетиламино-4-ацетоксибензальдегида (III), 3-ацетилгидроксиламино-4-аце-

Масс-спектр Со-аналога вридомицина А

<i>m/e</i>	Интенсивность, %	<i>m/e</i>	Интенсивность, %	<i>m/e</i>	Интенсивность, %
511	10,7	168	2,1	97	1,9
510	62,1	167	9,7	96	6,1
509	97,9 (<i>M</i>) ⁺	166	7,2	94	2,1
481	3,9	153	3,7	93	4,4
480	17,8	152	18,5	92	2,8
479	89,1	151	100,0	80	2,6
361	4,4	138	2,6	79	8,9
360	28,7	137	27,3	78	12,7
359	95,6	136	14,9		
		135	17,9	67	2,1
347	4,0	134	31,9	66	4,9
346	23,1	133	4,1	65	29,1
345	55,1	123	2,6	54	1,9
330	3,1	122	4,9	53	2,1
329	14,9	121	27,3	52	5,4
328	19,7	120	7,9	51	2,3
303	2,9	109	2,1		
302	12,7	108	4,4		
301	86,9	107	8,9		

токсисбензальдегида (IV), 3-ацетиламино-4-ацетоксибензилацетата (V) и 3-диацетиламино-4-ацетоксибензилацетата (VI) (табл. 2).

Первые акты распада молекулярного иона M^+ соединения (II) связаны с элиминированием молекул CH_2CO или CH_3COOH , а ион $(M - \text{CH}_2\text{CO})^+$ распадается далее, последовательно элиминируя частицы CH_2CO , HCO и



Фрагментация Со-аналога вридомицина А при электронном ударе

CO , что подтверждается соответствующими пиками метастабильных ионов. Элементарный состав всех перечисленных ионов определялся с использованием масс-спектра высокого разрешения. Первичный распад молекулярного иона M^+ соединения (V) аналогичен распаду молекулярного иона соответствующего альдегида (II). Ион $(M - \text{CH}_2\text{CO})^+$ последовательно элиминирует две молекулы CH_2CO или молекулы CH_3COOH и CH_2CO . Ион $(M - \text{CH}_3\text{COOH})^+$ распадается путем последовательного отщепления двух молекул CH_2CO . Все указанные пути распада подтверждаются пиками метастабильных ионов.

Характеристические ионы в масс-спектрах соединений (II) — (X)
 (m/e , в скобках — интенсивность, % от максимального пика)

Типы молекул	 R=H, R ¹ =Ac (II)		 R=Ac, R ¹ =Ac (III)		 R=H, R ¹ =OAc R ¹ =OAc (IV)		 R=H, R ¹ =Ac (V)		 R=Ac, R ¹ =Ac (VI)		 R=H, R ¹ =H (VII)		 R=Ac, R ¹ =Ac (IX)		 R=H, R ¹ =H (X)	
M ⁺	224 (13,4)	263 (4,4)	237 (10,2)	265 (2,5)	307 (6,2)	151 (100)	151 (100)	235 (3,5)	151 (100)	235 (41,3)	151 (400)	235 (3,5)	151 (400)	235 (41,3)		
(M-CH ₂ CO) ⁺	179 (99,8)	224 (97,7)	195 (64,6)	223 (8,4)	265 (33,3)	109 (98,9)	109 (98,9)	493 (36,2)	109 (96,7)	493 (96,5)	109 (96,7)	493 (36,2)	109 (96,7)	493 (96,5)		
(M-H ₂ O) ⁺	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-CH ₃ COOH) ⁺	164 (93,1)	—	477 (92,9)	205 (31,0)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-CH ₂ CO-HCO) ⁺	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-CH ₂ CO-CH ₃ COOH) ⁺	—	164 (99,8)	—	463 (100)	205 (38,7)	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-CH ₃ COOH-CH ₂ CO) ⁺	—	—	—	163 (100)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-CH ₃ COOH-2CH ₂ CO) ⁺	—	—	—	124 (79,8)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-2CH ₂ CO) ⁺	137 (100)	179 (88,7)	153 (100)	184 (53,7)	223 (9,9)	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-2CH ₂ CO-CH ₃ COOH) ⁺	—	—	—	—	163 (100)	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-CH ₂ CO-CH ₃ COOH-CH ₂ CO) ⁺	—	—	—	—	163 (100)	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-CH ₂ CO-CH ₃ COOH-2CH ₂ CO) ⁺	—	—	—	—	124 (83,7)	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-2CH ₂ CO-HCO) ⁺	108 (26,8)	—	124 (8,5)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-2CH ₂ CO-HCO-CO) ⁺	80 (31,7)	—	96 (7,3)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-3CH ₂ CO) ⁺	—	137 (100)	—	139 (58,9)	184 (78,3)	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-3CH ₂ CO-HCO) ⁺	—	108 (23,9)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-3CH ₂ CO-HCO-CO) ⁺	—	80 (30,9)	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-3CH ₂ CO-CH ₃ COOH) ⁺	—	—	—	—	124 (83,7)	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
(M-4CH ₂ CO) ⁺	—	—	—	—	139 (38,7)	—	—	—	—	—	—	—	—	—		
CH ₃ C≡O ⁺	43 (99,5)	43 (99,5)	43 (99,7)	43 (74,1)	43 (98,9)	43 (64,6)	43 (64,6)	43 (75,8)	43 (36,5)	43 (98,2)	43 (36,5)	43 (75,8)	43 (98,2)	43 (98,2)		

Процесс отрыва молекул уксусной кислоты от молекулярных ионов соединений (II) и (V), по-видимому, связан с взаимодействием соседних ацетокси- и ацетаминогрупп [5] и состоит в преимущественном элиминировании *О*-ацетильной группы с захватом водородного атома от аминогруппы. В свете сказанного выше элиминирование молекул уксусной кислоты из молекулярных ионов ацетильных производных 3-амино-4-оксибензальдегида и 3-амино-4-оксибензилового спирта при электронном ударе должно быть характерно лишь для их моноацетиламинопроизводных. Действительно, в масс-спектре соединения (III), в котором оба водородных атома аминогруппы замещены ацетильными остатками, пик иона ($M - \text{CH}_3\text{COOH}$)⁺ отсутствует. Возможность элиминирования молекулы уксусной кислоты появляется только после выброса молекулярным ионом одной ацетильной группы от атома азота [6], т. е. из иона ($M - \text{CH}_2\text{CO}$)⁺ с m/e 221. Такая же картина наблюдается и в масс-спектре соединения (VI).

В масс-спектре продукта (IV), в молекуле которого у атома азота содержатся ацетоксильная группа и водородный атом, присутствует интенсивный пик иона ($M - \text{CH}_3\text{COOH}$)⁺ с m/e 177 (92,9%).

Тот факт, что в элиминировании уксусной кислоты из молекулярных ионов моноацетиламинозамещенных продуктов (II), (IV) и (V) участвует ацетоксильная группа, подтверждается исследованием масс-спектра *о*-ацетиламинофенола (VII). В масс-спектре этого соединения присутствует достаточно интенсивный пик иона ($M - \text{H}_2\text{O}$)⁺ с m/e 133 (22,4%), образование которого связано с элиминированием оксигруппы и водородного атома от находящейся в орто-положении аминогруппы. Пик иона с m/e 133 обладает малой интенсивностью (1,6%) в спектре *n*-ацетиламинофенола (VIII). В масс-спектре полностью ацетилированного *о*-аминофенола (IX) отсутствует пик иона ($M - \text{CH}_3\text{COOH}$)⁺ с m/e 175, но присутствует интенсивный пик иона ($M - \text{CH}_2\text{CO} - \text{CH}_3\text{COOH}$)⁺ с m/e 133 (50,8%), тогда как в масс-спектре соответствующего пара-изомера (X) пик иона с m/e 133 обладает гораздо меньшей интенсивностью (5,4%).

Таким образом, масс-спектрометрическое исследование кобальтового аналога виридомидина А, а также изучение продуктов восстановления виридомидина методом хроматомасс-спектрометрии показывает, что этот метод может успешно использоваться при установлении строения лигандов такого типа железосодержащих антибиотиков.

Экспериментальная часть

Идентификация веществ проводилась масс- и хроматомасс-спектрометрически. Масс-спектры индивидуальных соединений получены на приборе ЛКВ-9000 (Швеция) при непосредственном введении образцов в ионный источник масс-спектрометра, а масс-спектры смесей — путем введения образца через газожидкостный хроматограф (колонка $1,5 \times 0,03$ м, 3% SE-30 на хромосорбе W, температура от 100 до 250°, 3°/мин). Энергия ионизирующих электронов 70 эВ. Температура ионизационной камеры масс-спектрометра 250—270°. Точное измерение значений массовых чисел ионов проведено на масс-спектрометре МС-3301 (СССР) при разрешающей способности прибора около 15 000.

Восстановление виридомидина А цинковой пылью проводили как предложено в работе [7]. Из 200 мг виридомидина А после восстановительного ацетилирования получили 236 мг маслообразного вещества желтого цвета. Оно содержало 5 компонентов, по данным хроматографии на пластинках «силуфол» UV-254 в системе этилацетат — гексан (1 : 1) с R_f 0,13; 0,23; 0,6; 0,7; 0,8. 120 мг маслообразной смеси нанесли на колонку ($20 \times 1,2$ см) силикагеля КСК или кремневой кислоты (размер частиц 150—200 меш.). Элюировали смесью этилацетата и гексана или этилацетата и бензола с возрастающим содержанием этилацетата. Собирали фракции по 100 мл. Фракции 1 и 2 (соответственно 10 и 20% этилацетата в бен-

золе) содержали быстроподвижные компоненты (R_f 0,6 и выше), фракции 3 и 4 (соответственно 50% этилацетата в бензоле и чистый этилацетат) — низкоподвижные компоненты с R_f 0,13 и 0,23. Из фракций 3 и 4 после упаривания и растворения остатка в эфире при охлаждении вышло в осадок белое кристаллическое вещество. Выход 18 мг, т. пл. 161—162°, R_f 0,2 в системе этилацетат—гексан (1 : 1) на пластинках «силуфол». Вещество идентифицировали масс-спектрометрически как соединение (II). Из фракций 1 и 2 после удаления растворителя получили маслообразную смесь, состоящую, по данным ГЖХ, из трех веществ, идентифицированных хроматомасс-спектрометрически как соединения (III), (IV) и (VI).

Соединение (V) получено восстановлением виридомицина А боргидридом натрия с последующим ацетилированием. 103 мг виридомицина А растворяли в 20 мл 75%-ного водного метанола, прибавляли 170 мг боргидрида натрия, нагревали при 65° 1 ч. Раствор подкисляли 1 н. HCl до pH 2 и концентрировали в вакууме. К остатку прибавляли 4 мл пиридина и 4 мл уксусного ангидрида, кипятили при перемешивании 2 ч, упаривали досуха, несколько раз добавляли этанол и снова упаривали. При хроматографировании на пластинках «силуфол» в системе этилацетат — гексан (1 : 1) обнаружены три пятна с R_f 0,2; 0,3 и 0,55. После препаративного деления на пластинках «силуфол» компонент с R_f 0,3 закристаллизовали из эфира. Выход 12 мг, т. пл. 105—108°, идентифицировали масс-спектрометрически как соединение (V).

ЛИТЕРАТУРА

1. Блинов Н. О., Блинова И. Н., Егорова С. А., Марченко И. В., Хохлов А. С. (1973) Тезисы докладов III Советско-индийского симпозиума по химии природных соединений, с. 40, Ташкент.
2. Хохлов А. С., Блинова И. Н., Розынов Б. В., Егорова С. А. (1972) Тезисы докладов III Советско-индийского симпозиума по химии природных соединений, с. 168—169, Ташкент.
3. Хохлов А. С., Блинова И. Н. (1974) Докл. АН СССР, 215, 1493—1496.
4. Бейсон Дж. (1964) Масс-спектрометрия и ее применение в органической химии, с. 423, «Мир», М.
5. Bursley I. T., Bursley M. M., Kingston D. G. I. (1973) Chem. Rev., 73, 191—234.
6. Tommer K. V., Hammerum S., Djerassi G. D. (1973) Tetrahedron Lett., 12, 915—917.
7. Ballio A., Bertholdt H., Carilli A., Chain E. B., Di Vittorio V., Tonolo A., Verocellona L. (1963) Proc. Roy. Soc., 158, 43.

Поступила в редакцию
9.VII.1975

NEW IRON-CONTAINING ANTIBIOTICS. MASS SPECTROMETRIC INVESTIGATION OF Co-ANALOG AND REDUCTION PRODUCTS OF VIRIDOMYCIN A

ROSYNOV B. V., BLINOVA I. N., KHOKHLOV A. S.

M. M. Shemyakin Institute of Bioorganic Chemistry, Academy of Sciences of the USSR, Moscow

Mass spectra were obtained for $[\text{Co}(\text{OC}_6\text{H}_3-2\text{-NO}, -4\text{-COH})_3]$, cobalt analog of viridomycin A, as well as for the products of antibiotic reductive acetylation (3-acetyl-amino-4-acetoxybenzaldehyde, 3-diacetyl-amino-4-acetoxybenzaldehyde, 3-acetylhydroxylamino-4-acetoxybenzaldehyde, acetates of 3-acetylhydroxylamino-4-acetoxybenzoic and 3-diacetyl-amino-4-acetoxybenzoic alcohols) and for *o*- and *p*-aminophenol acetates. For the above compounds, the main fragmentation patterns under the electron impact were found and the effects of ortho-substituents on the molecular ions degradation studied.