

УДК 547.655.6

ПРЕПАРАТИВНОЕ МОНОМЕТИЛИРОВАНИЕ 2,3,5,6,7,8-ГЕКСАГИДРОКСИНАФТАЛИН-1,4-ДИОНА (СПИНОХРОМА E). ПЕРВЫЙ НАПРАВЛЕННЫЙ СИНТЕЗ НАМАКОХРОМА – ПРИРОДНОГО ПИГМЕНТА ГОЛОТУРИИ *Polycheira rufescens*

© 2020 г. С. Г. Полоник*, В. А. Денисенко, Р. С. Попов, А. А. Артюков, Ю. Е. Сабуцкий

ФГБУН «Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН»,
Россия, 690022, г. Владивосток, пр. 100-лет Владивостоку, 159
*e-mail: sergpol@piboc.dvo.ru

Поступила в редакцию 27 июля 2019 г.
После доработки 13 декабря 2019 г.
Принята к публикации 16 декабря 2019 г.

Разработан 4-стадийный препаративный синтез намакохрома – природного пигмента голотурии *Polycheira rufescens*, в котором доступный природный пигмент морских ежей спинохром E превращают в гексаацетат, селективно удаляют одну ацетатную группу в β-положении хиноидного ядра, метилируют полученный пентаацетат спинохрома E диазометаном и, на завершающей стадии, удаляют все защитные ацетатные группы в растворе HCl/MeOH. Выход намакохрома на 4 стадии синтеза составил ~46–51%.

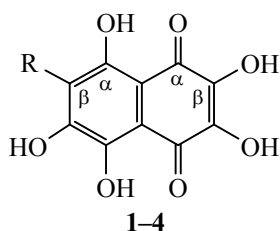
Ключевые слова: спинохром E, 2,3,5,6,7,8-гексагидроксинафталин-1,4-дион, намакохром, 2,5,6,7,8-пентагидрокси-3-метоксинафталин-1,4-дион, пигмент, голотурия *Polycheira rufescens*.

DOI: 10.31857/S0514749220020056

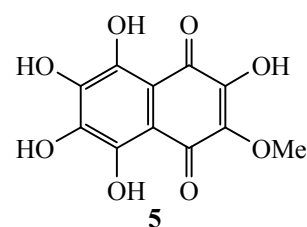
1,4-Нафтохиноны широко распространены в природе [1] и привлекают внимание вследствие своей разнообразной биологической активности. Среди них выделяются производные 5,8-дигидрокси-1,4-нафтохинона (нафтазарина) **1–5** (см. рисунок), в которых нафтазариновое ядро несет 3 или 4 β-гидроксильные группы, отвечающие за антиокислительную и биологическую активность этих соединений [2, 3].

Наиболее доступный хинон этой группы эхинохром **1**, выделенный из панцирей морских

ежей, используют в лекарственном препарате Гистохром™ в виде натриевой соли. Гистохром применяют для лечения травм и ожогов глаз, ишемии и инфаркта миокарда [4]. Углубленное изучение эхинохрома, выполненное в последние годы, показало, что этот хинон усиливает митохондриальный биогенез сердечных [5] и скелетных мышц [6], ингибирует ацетилхолинэстеразу [7], улучшает липидный и белковый обмен при сахарном диабете 1 и 2 типа [8]. Сходными свойствами обладает и спинохром D **3** [9], хинон с аналогичным набором гидроксильных групп, который отличается от эхино-



- 1: R = Et (эхинохром)
- 2: R = Ac (спинохром C)
- 3: R = H (спинохром D)
- 4: R = OH (спинохром E)
- 5: (намакохром)



Природные полигидроксиафтазарины.

хрома только отсутствием этильного заместителя. Другой доступный полярный пигмент спинохром Е 4 несет в ядре 1,4-нафтохинона 6 гидроксильных групп и существенно отличается от эхинохрома 1 и спинохрома D 3 по полярности и растворимости в органических растворителях. Спинохром Е 4 хорошо растворим только в низших спиртах – метаноле и этаноле, что осложняет его экстракцию из панцирей морских ежей. Спинохром С 2 содержится в панцирях морских ежей в относительно малых количествах и его свойства слабо исследованы. Среди природных полигидроксинафтазаринов намакохром 5 является единственным соединением, которое было выделено из голотурии [10, 11]. Намакохром 5 содержится в голотурии *Polycheira rufescens* в столь незначительных количествах, что для его выделения потребовалось собрать 29000 экземпляров голотурии [11].

Намакохром 5 является монометиловым эфиром спинохрома Е, по строению он изоморфен эхинохрому, и поэтому можно ожидать, что намакохром 5 также будет обладать полезными свойствами, как и эхинохром 1. Очевидно, что получить образец намакохрома 5 для биологических испытаний можно либо его полным синтезом, либо избирательным метилированием спинохрома Е 4. Анализ литературы показал, что методы препаративного получения намакохрома 5 до сих пор не описаны. Поскольку ранее в ТИБОХ ДВО РАН был разработан способ выделения спинохрома Е из панцирей промысловых видов морских ежей [12], которые остаются в виде отходов после отбора икры, то для получения намакохрома 5 мы решили использовать доступный для нас спинохром Е 4.

Целями нашего исследования являлась разработка направленного метода монометилирования спинохрома Е 4, препаративная наработка образца намакохрома 5 для биологических испытаний и первичная характеристика его антиоксидантной активности на модели обесцвечивания дифенилпикрилгидразильного радикала. Наш собственный опыт по метилированию спинохрома Е 4 диазо-

метаном [13] и работы группы Шойера [14], выполненные в середине XX века, показали, что прямое метилирование спинохрома Е 4 диазо-метаном ведет к образованию трудноразделимой смеси различных метиловых эфиров. Более продуктивным вариантом является подход с предварительным ацелированием всех гидроксильных групп спинохрома Е 4, что улучшает его растворимость в органических растворителях и защищает гидроксильные группы хинона от окисления в основных средах. Последующее избирательное удаление одной β -ацетатной группы в хиноидной части гексаацетата спинохрома Е 6, метилирование β -гидроксильной группы в полученном пентаацетате спинохрома Е 7 диазо-метаном и исчерпывающее удаление всех защитных ацетатных групп в метиловом эфире 8 в растворе хлороводорода в MeOH позволит получить намакохром 5 (схема 1).

Ацелирование спинохрома Е 4 проводили в уксусном ангидриде при катализе серной кислотой по Смит и Томсону [15]. После оптимизации процесса гексаацетат 6 получили из реакции в виде желтых кристаллов с выходом 78–85% и использовали на последующей стадии без дополнительной очистки. Характерной особенностью нафтохинонов группы нафтазарина является легкость таутомерных переходов между хиноидной и ароматической частями нафтазаринового ядра. Для спинохрома Е 4 это приводит к тому, что гидроксильные группы в положениях C^2 , C^3 , C^6 и C^7 обладают одинаковой реакционной способностью. В гексаацетате 6 такие переходы значительно замедлены, и ПМР спектр показывает 3 вида сигналов ацетатных групп, 2 из которых относятся к ароматической части нафтазарина, а третий относится к подвижным ацетатам хиноидного кольца. Избирательное дезацелирование одного из β -гидроксильных в хиноидной части хинона 6 проводили в растворе водного ацетонитрила под действием K_2CO_3 . Реакцию вели до полной конверсии гексаацетата 6 и после препа-

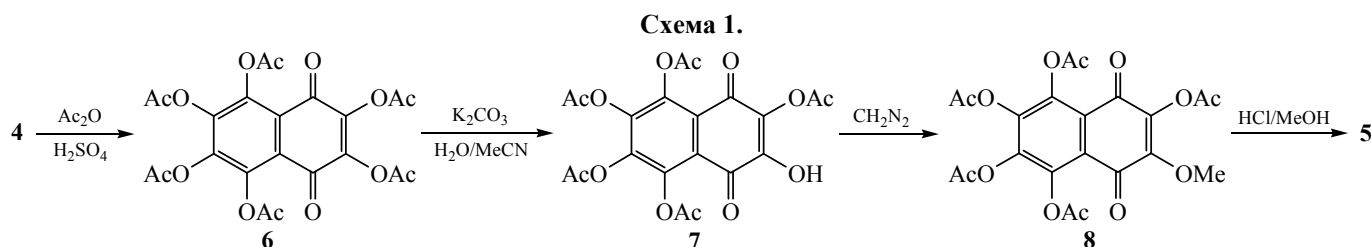
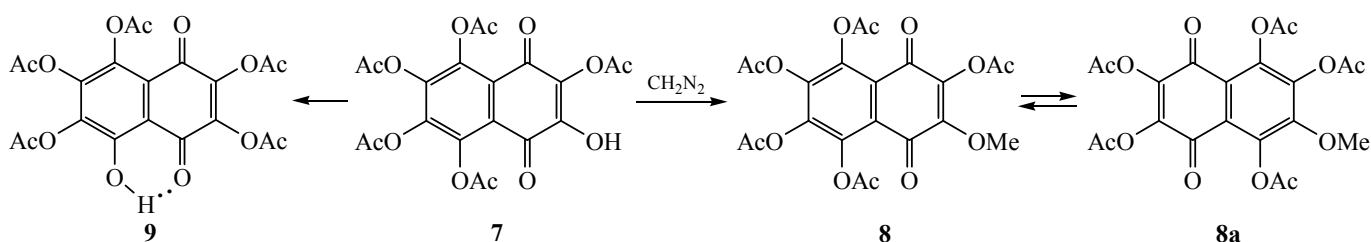


Схема 2.



ративной ТСХ с выходом 72–76% получили пентаацетат спинохрома Е 7.

По данным масс-спектрометрии пентаацетат 7 соответствовал брутто-формуле $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_{13}$. ПМР спектр пентаацетата 7 содержал синглеты 5 ацетатных групп при 2.32, 2.33, 2.35, 2.40 и 2.41 м.д. и однопротонный синглет β -гидроксильной группы при 7.10 м.д. В ИК спектре гидроксихинона 7 наблюдали характеристические полосы поглощения карбонильных групп при 1637 и 1688 см^{-1} ; полосу поглощения ацетатных групп при 1791 см^{-1} и полосу поглощения при 3385 см^{-1} , характерную для хиноидных β -гидроксильных групп. При перекристаллизации образца пентаацетата 7 из смеси MeOH – бензол наблюдали его превращение в новое, менее полярное окрашенное соединение розового цвета, которое по данным масс-спектрометрии соответствовало брутто-формуле $\text{C}_{20}\text{H}_{16}\text{O}_{13}$. В спектре ЯМР ^1H этого вещества в области сильного поля имелись сигналы 5 ацетатных групп и слабopольный однопротонный синглет при 12.23 м.д., характерный для сигналов протонов α -гидроксильных групп, образующих сильную внутримолекулярную водородную связь с хиноидным карбонилom. В ИК спектре этого соединения отсутствовала полоса поглощения β -гидроксильной группы, которая наблюдалась в исходном хиноне 7, и присутствовали полосы поглощения карбонильных групп при 1642 и 1680 см^{-1} и ацетатных групп при 1793 см^{-1} , что отвечало предложенной структуре пентаацетата спинохрома Е 9 с α -гидроксильной группой в положении C^5 (схема 2). По-видимому, нагревание раствора пентаацетата 7 вызвало миграцию ацетатных групп и таутомерные превращения в нафтазаринoвом ядре, которые привели к образованию более стабильного изомера 9 с внутримолекулярной водородной связью между α -гидроксильной группой и хиноидным карбонилom.

Метилирование пентаацетата 7 проводили в растворе этилацетата ступенчатым добавлением

перегнанного раствора диазoметана в диэтиловом эфире. ПМР спектр полученного продукта метилирования содержал характеристические сигналы 2-х метоксильных групп при 4.10 и 3.96 м.д. с интенсивностью $\sim 6:1$. Помимо этого, в области сильного поля наблюдались 2 группы сигналов, содержащих по 5 ацетатных групп, с соотношением интегральной интенсивности в этих группах $\sim 6:1$, что указывало на образование 2-х изомерных метиловых эфиров, которым приписали структуры 8/8a (схема 2). Повторная ПМР спектроскопия продуктов метилирования 8/8a, которые хранились в твердом виде при комнатной температуре, выполненная спустя ~ 10 ч, показала, что интегральная интенсивность сигналов метоксильных групп изменилась и составила $\sim 3:1$. Спустя 2 сут по данным ПМР соотношение изомеров 8/8a составляло $\sim 2:1$. В масс-спектре высокого разрешения смеси изомеров 8/8a, записанном в режиме отрицательных ионов, пика молекулярного иона не обнаружили, но наблюдали ион $[M - \text{Ac}]^-$ с массой 435.0562, который, по-видимому, образуется из эфиров 8/8a вследствие отщепления подвижного ацетила. Очевидно, что движущей силой изомеризации хинона 8 в изомер 8a являются стерические напряжения, вызванные взаимным отталкиванием 4 ацетатных групп, расположенных в ряд в ароматической части изомера 8, а сам процесс изомеризации 8 в 8a является примером ацилотропной перегруппировки [16].

Удаление защитных групп в пентаацетатах 8/8a проводили без разделения смеси изомеров, выдерживая их в растворе HCl/MeOH при комнатной температуре в течение 8–16 ч. После удаления ацетатных групп быстрые таутомерные превращения, характерные для соединений группы нафтазарина, приводят к образованию одного термодинамически наиболее выгодного таутомера, которому была приписана структура 5. Целевой продукт выделили препаративной ТСХ на силикагеле и получили намакохром 5 с выходом 81–

Антирадикальная активность намакохрома **5** в отношении дифенилпикрил-гидразильного радикала в сравнении с эхинохромом **1**, спинохромом **Е 4** и витамином С^а.

Соединение	Ингибирование дифенилпикригидразильного радикала, %					IC ₅₀ , μМ
	концентрация соединений, μМ					
	2.5	5	10	20	30	
Эхинохром 1	39.7±0.3	51.7±0.1	71.5±0.3	98.0±0.2	–	4.7±0.1
Спинохром Е 4	7.5±0.2	13.3±0.2	22.8±0.5	49.8±0.1	73.3±0.2	20.5±0.5
Намакохром 5	12.2±0.2	26.1±0.5	47.1±0.2	78.0±0.6	93.4±0.2	9.2±0.3
Витамин С	–	10.8±0.2	17.8±0.3	35.9±0.2	56.5±0.6	26.1±1.7

^а Каждая величина представляет среднее значение ± стандартное отклонение (n = 3).

84%. Выход намакохрома **5** на 4 стадии синтеза составил ~46–51%. Так как строение намакохрома **5** было установлено методами классической органической химии, мы исследовали полученный нами образец монометилового эфира спинохрома **Е** – намакохром **5** – методами ИК-, ЯМР ¹H и ¹³C спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения. Полученные нами физико-химические данные подтвердили правильность ранее предложенной структуры намакохрома **5** [11]. Намакохром **5** хорошо растворялся в метаноле, этаноле и диметилсульфоксиде, умеренно растворялся в ацетоне и был практически нерастворим в хлороформе.

Поскольку биологическое действие эхинохрома **1** связывают с его антиоксидантными свойствами [2, 3], для вновь синтезированного намакохрома **5** была изучена антирадикальная активность, которую оценивали по способности исследуемого вещества обесцвечивать окрашенный дифенилпикрилгидразильный радикал [17]. В качестве веществ сравнения выбрали эхинохром **1**, исходный спинохром **Е 4** и витамин С. Полученные результаты представлены в таблице. Среди исследованных хинонов наименьшую активность проявил спинохром **Е 4** (IC₅₀ 20.5 μМ). Метилирование одного из β-гидроксильных спинохрома **Е 4** привело к двукратному увеличению антиоксидантной активности IC₅₀, которая для намакохрома **5** составила 9.2 μМ, но была вдвое ниже, чем у эхинохрома **1** (IC₅₀ 4.7 μМ). Вероятно, более низкая антиоксидантная активность намакохрома **5**, по сравнению с эхинохромом **1**, связана с электронным эффектом метоксильного радикала.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Температуры плавления определяли на нагревательном столике «Voetius» (ГДР) и не корректи-

ровали. ИК спектры записывали на спектрофотометре «Bruker Vector 22» (ФРГ) в КВг и CHCl₃. Спектры ЯМР ¹H и ¹³C регистрировали на спектрометрах «Bruker Avance-III-500 HD» (ФРГ) (500 МГц для ¹H и 125 МГц для ¹³C), «Bruker Avance-III-700» (ФРГ) (700 МГц для ¹H и 176 МГц для ¹³C) в CDCl₃ и DMSO-*d*₆ (внутренний стандарт – Me₄Si). Масс-спектры (ESI) получали на приборе «Bruker Maxis Impact II» (ФРГ) в режиме регистрации отрицательных ионов [M – H]⁻. Контроль за ходом реакций и индивидуальностью полученных соединений осуществляли методом ТСХ на пластинках Сорбфил (Россия) в системе растворителей: гексан–бензол–ацетон (2:1:1, v/v) (А); бензол–этил-ацетат–метанол (2:1:1, v/v) (В); бензол–этилацетат–метанол (3:1:1, v/v) (С). Для уменьшения остаточной адсорбции хинонов пластинки обрабатывали парами HCl. Выделение индивидуальных соединений из смесей продуктов реакций проводили методом ПТСХ на пластинках (20×20 см) с незакрепленным слоем силикагеля 60 Merck (ФРГ) (H⁺-форма) 40–63 мкм. В работе использовали 2,2-дифенил-1-пикрилгидразильный (DPPH) радикал фирмы Alfa Aesar (ФРГ). Исходный спинохром **Е 4** выделяли из морского ежа *Strongylocentrotus nudus*. Все растворители производства АО «Вектон» (Россия) перед использованием перегоняли.

Ацелирование спинохрома Е 4. К 254 мг (1.0 ммоль) суспензии спинохрома **Е 4** в 2.5 мл свежеперегнанного Ac₂O при перемешивании добавляли 2 капли конц. H₂SO₄. Реакционная смесь слегка нагревалась и приобретала желто-коричневый цвет. Перемешивание реакционной смеси продолжали 5 ч, кристаллы спинохрома **Е 4** постепенно растворялись, реакционную смесь выдерживали 10 ч при комнатной температуре, выливали на лед и перемешивали до образования желтого кристаллического осадка. Кристаллы отфильтро-

вывали, промывали ледяной водой, сушили до постоянной массы и получали 431 мг (85%) **2,3,5,6,7,8-гексаацетокси-нафталин-1,4-диона (6)**, R_f 0.24 (А). Светло-желтые кристаллы, т.пл. 186–188°C (192°C [15]). ИК спектр (CHCl_3), ν , cm^{-1} : 1796 (CH_3COOR), 1683 ($\text{C}=\text{O}$), 1584, 1446, 1370, 1275, 1239, 1179, 1127, 1055, 1009. Спектр ЯМР ^1H (700 МГц, CDCl_3), δ , м.д.: 2.33 с (6H, 2OAc), 2.35 с (6H, 2OAc), 2.40 с (6H, 2 х OAc). Спектр ЯМР ^{13}C (176 МГц, CDCl_3), δ , м.д.: 20.0 ($2\text{C}\text{H}_3\text{CO}$), 20.2 ($2\text{C}\text{H}_3\text{CO}$), 20.6 ($2\text{C}\text{H}_3\text{CO}$), 121.3 (2), 142.0 (2), 142.8 (2), 143.2 (2), 165.6 ($2\text{C}\text{H}_3\text{CO}$) 166.2 ($2\text{C}\text{H}_3\text{CO}$), 167.2 ($2\text{C}\text{H}_3\text{CO}$), 175.5 (2).

2,5,6,7,8-Пентаацетокси-3-гидрокси-нафталин-1,4-дион (7). К раствору 160 мг (0.31 ммоль) гексаацетата спинохрома Е 6 в ацетонитриле (28 мл) при перемешивании, контролируя ход реакции ТСХ в системе А, за 2–3 мин по каплям добавляли раствор K_2CO_3 (70 мг, 0.5 ммоль) в 4 мл воды. После добавления K_2CO_3 реакционная смесь окрашивалась в винно-красный цвет. Перемешивание продолжали в течение 55–65 мин, контролируя ход реакции ТСХ в системе А. Продукты реакции на хроматограмме визуализовали обработкой парами аммиака, под действием которого целевой продукт реакции 7 с R_f 0.39 (А) быстро окрашивался в оранжевый цвет. При более длительном выдерживании проявлялось коричневое пятно исходного гексаацетата 6 (R_f 0.24), и цвет целевого продукта менялся на коричневый. Процесс вели до полной конверсии исходного хинона. Реакционную смесь подкисляли осторожным добавлением по каплям конц. HCl до изменения цвета, реакционная смесь желтела. Реакционную смесь упаривали в вакууме с добавлением толуола. Полученный желтый сироп растворяли в ацетоне, отфильтровывали выпавший осадок неорганических солей, фильтрат упаривали в вакууме с добавлением толуола. Из остатка препаративной ТСХ в системе А выделяли основную фракцию с R_f 0.39. Целевой продукт 7 смывали с силикагеля ацетоном, фильтрат упаривали и сушили в вакууме. Остаток растворяли в ацетоне (3 мл), к раствору добавляли толуол (5 мл) и осторожно упаривали при пониженном давлении до образования бесцветных кристаллов. Кристаллы отфильтровывали и получали хинон 7. Выход 110 мг (76%). При нагревании свыше 210°C бесцветные иглы медленно превращались в красные кубические кристаллы, которые плавилась при 261–265°C. ИК спектр (CHCl_3), ν , cm^{-1} : 3385 (OH), 1790 (CH_3COOR), 1668 ($\text{C}=\text{O}$), 1636 ($\text{C}=\text{O}$), 1439, 1370,

1352, 1279, 1158, 1057, 1006. Спектр ЯМР ^1H (700 МГц, CDCl_3), δ , м.д.: 2.33 с (6H, 2OAc), 2.35 с (3H, $\text{C}^2\text{-OAc}$), 2.40 с (3H, OAc), 2.41 с (3H, OAc), 7.11 с (1H, $\text{C}^3\text{-OH}$). Спектр ЯМР ^{13}C (176 МГц, CDCl_3), δ , м.д.: 20.0 ($2\text{C}\text{H}_3\text{CO}$), 20.2 ($\text{C}\text{H}_3\text{CO}$), 20.5 ($\text{C}\text{H}_3\text{CO}$) 20.6 ($\text{C}\text{H}_3\text{CO}$), 120.0, 121.5, 131.7, 141.8, 141.9, 142.1, 143.8, 145.9, 165.6 ($\text{C}\text{H}_3\text{CO}$) 165.7 ($\text{C}\text{H}_3\text{CO}$), 166.7 ($\text{C}\text{H}_3\text{CO}$), 167.2 ($\text{C}\text{H}_3\text{CO}$), 167.4 ($\text{C}\text{H}_3\text{CO}$), 175.8, 178.9. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) m/z : 463.0512 [$M - \text{H}$] $^-$. $\text{C}_{20}\text{H}_{15}\text{O}_{13}$. M 463.0518.

Метилирование пентаацетата спинохрома Е 7 диазометаном. К раствору 112 мг (0.24 ммоль) хроматографически чистого хинона 7 в 10 мл этилацетата небольшими порциями добавляли раствор диазометана в серном эфире до полной конверсии исходного хинона. Ход реакции контролировали методом ТСХ в системе А. Реакционную смесь упаривали и получали бесцветную карамель массой 109 мг (95%), которая по данным ПМР спектроскопии являлась смесью 2 изомерных метиловых эфиров: **2,5,6,7,8-пентаацетокси-3-метокси-нафталин-1,4-диона (8)** и **2,3,5,6,8-пентаацетокси-7-метокси-нафталин-1,4-диона (8a)**. ИК спектр смеси (CHCl_3), ν , cm^{-1} : 1793 (CH_3COOR), 1680 ($\text{C}=\text{O}$), 1644 ($\text{C}=\text{O}$), 1449, 1370, 1326, 1288, 1179, 1124, 1011. Спектр ЯМР ^1H (700 МГц, CDCl_3) основного изомера (вычленен из спектра смеси), δ , м.д.: 2.32 с (3H, OAc), 2.33 с (3H, OAc), 2.36 с (3H, OAc), 2.39 с (3H, OAc), 2.41 с (3H, OAc), 4.10 с (3H, MeO). Спектр ЯМР ^1H минорного изомера, δ , м.д.: 2.34 с (3H, OAc), 2.35 с (3H, OAc), 2.36 с (3H, OAc), 2.41 с (3H, OAc), 2.45 с (3H, OAc), 3.96 с (3H, OMe). Масс-спектр высокого разрешения (ESI) m/z : 435.0562 [$M - \text{Ac}$] $^-$. $\text{C}_{19}\text{H}_{15}\text{O}_{12}$. M 435.0569.

2,3,6,7,8-Пентаацетокси-5-гидрокси-нафталин-1,4-дион (9). Пентаацетат спинохрома Е 7 100 мг растворяли при кипячении в 5 мл смеси метанол–бензол (1:1 v/v). Наблюдали изменение цвета раствора от светло-желтого до красно-оранжевого. ТСХ раствора показала исчезновение пятна взятого хинона 7 с R_f 0.39 (А) и появление нового малополярного вещества оранжевого цвета с R_f 0.55 (А). Раствор упаривали и получали оранжевые кристаллы хинона 9. Выход 98 мг (98%), т.пл. 244–246°C. ИК спектр (CHCl_3), ν , cm^{-1} : 1793 (CH_3COOR), 1680 ($\text{C}=\text{O}$), 1642 ($\text{C}=\text{O}$), 1434, 1400, 1371, 1293, 1280, 1179, 1142, 1055, 1006. Спектр ЯМР ^1H (500 МГц, CDCl_3), δ , м.д.: 2.34 с (3H, OAc), 2.35 с (3H, OAc), 2.36 с (3H, OAc), 2.37 с (3H, OAc),

2.38 с (3H, OAc), 12.24 с (1H, C⁵-OH). Спектр ЯМР ¹³C (176 МГц, CDCl₃), δ, м.д.: 20.04 (CH₃CO), 20.08 (CH₃CO), 20.15 (CH₃CO), 20.2 (CH₃CO) 20.5 (CH₃CO), 111.5, 119.1, 137.7, 138.8, 142.8, 143.8, 144.8, 154.2, 166.0 (2 x CH₃CO), 166.2 (CH₃CO), 166.3 (CH₃CO), 167.5 (CH₃CO), 175.0, 182.9. Масс-спектр высокого разрешения (ESI) *m/z*: 463.0512 [*M* – H][–]. C₂₀H₁₅O₁₃. *M* 463.0518.

Намакохром 5. К 120 мг (0.25 ммоль) раствора смеси метиловых эфиров пентаацетата намакохрома **8/8a** в 12 мл абс. MeOH при перемешивании по каплям добавляли 1.2 мл ацетилхлорида. Наблюдала разогрев смеси. Реакционную смесь выдерживали 15–20 ч при комнатной температуре. Полученный красно-коричневый раствор упаривали в вакууме с добавлением толуола, повторно растворяли в MeOH и упаривали с толуолом. Из полученного остатка ПТСХ в системе (С) выделяли основную фракцию с *R_f* 0.47 (В). Выход 56 мг (84%) **2,5,6,7,8-пентагидрокси-3-метоксинафталин-1,4-диона (5)**. Темно-красные кристаллы, т.пл. 224–226°С (218°С [10]). ИК спектр (KBr), ν, см^{–1}: 3550 (OH), 3480 (OH), 3414 (OH), 1673, 1636 (C=O), 1618 (C=O), 1456, 1365, 1327, 1268, 1181, 1160, 1142, 1074, 1055, 1000. Спектр ЯМР ¹H (500 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 3.86 с (3H, OMe), 10.34 уш.с (2H, β-OH), 10.71 уш.с (1H, β-OH), 12.72 уш.с (1H, α-OH), 12.99 с (1H, α-OH). Спектр ЯМР ¹³C (125 МГц, ДМСО-*d*₆), δ, м.д.: 60.5 (OMe), 102.3, 104.9, 140.3, 140.7, 141.8, 148.0, 158.8, 161.9, 173.4 (C=O), 174.2 (C=O). Масс-спектр высокого разрешения (ESI) *m/z*: 267.0142 [*M* – H][–]. C₁₁H₇O₈. *M* 267.0146.

Спектрофотометрический метод определения антирадикальной активности по гашению дифенилпикрилгидразильного (DPPH) радикала. Определение антирадикальной активности проводили по методу [17], адаптированному для исследования окрашенных соединений. Спиртовой раствор соединений (*V* 1.3 мл) в различных концентрациях (конечная концентрация в диапазоне 0–100 μМ) доводили до объема 2 мл добавлением 0.7 мл спиртового раствора DPPH (6 мг реагента в 50 мл 96% спирта; конечная концентрация 0.1 мМ). Оптическую плотность исследуемых растворов и растворов сравнения определяли при длине волны 517 нм через 20 мин после смешения и выдерживания в темноте. Процент ингибирования свободных радикалов рассчитывали следующим образом:

$$\text{Ингибирование (\%)} = 100 - [(A_{\text{реакции}} - A_{\text{соединения}}) / A_{\text{контроль}} \times 100],$$

где *A*_{реакции} – оптическая плотность реакционной смеси, *A*_{соединения} – оптическая плотность испытуемого соединения при определенной концентрации (517 нм), а *A*_{контроль} – поглощение 0.1 мМ раствора DPPH в 96% EtOH использовали в качестве стандарта с нулевой оптической плотностью. Корректировка оптической плотности реакции при 517 нм необходима из-за поглощения соединений при этой длине волны. Для получения значения IC₅₀ были построены кривые зависимости % ингибирования DPPH радикала от концентрации исследуемого антиоксиданта. Для сравнения использовали эхинохром **1** и аскорбиновую кислоту.

БЛАГОДАРНОСТИ

Авторы благодарят к.ф.-м.н. В.П. Глазунова за запись ИК спектров.

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при финансовой поддержке РНФ (проект № 19-14-00047).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Thomson R.H. *Naturally Occurring Quinones*. 4th Edn. London–New York: Blackie Academic & Professional, 1997.
2. Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D.O. *Life Sci.* **2005**, *76*, 863–875. doi 10.1016/j.lfs.2004.10.007
3. Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D.O. *Hemoglobin.* **2008**, *32*, 165–179. doi 10.1080/03630260701700017
4. Мищенко Н.П., Федореев С.А., Багирова В.Л. *Хим.-фарм. ж.* **2003**, *37*, 49–53. [Mishchenko N.P., Fedoreev S.A., Bagirova V.L. *Pharm. Chem. J.* **2003**, *37*, 48–52.] doi 10.1023/A:1023659331010
5. Jeong S.H., Kim H.K., Song I.S., Noh S.J., Marquez J., Ko K.S., Rhee B.D., Kim N., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. *Mar. Drugs.* **2014**, *12*, 4602–4615. doi 10.3390/md12084602
6. Seo D.Y., McGregor R.A., Noh S.J., Choi S.J., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J.

- Mar. Drugs.* **2015**, *13*, 5722–5731. doi 10.3390/md13095722
7. Lee S.R., Pronto J.R.D., Sarankhuu B.-E., Ko K.S., Rhee B.D., Kim N., Mishchenko N.P., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. *Mar. Drugs.* **2014**, *12*, 3560–3573. doi 10.3390/md12063560
 8. Soliman A.M., Mohamed A.S., Marie A.S. *Austin J. Endocrinol. Diabetes.* **2016**, *3*, 1045.
 9. Yoon C.S., Kim H.K., Mishchenko N.P., Vasileva E.A., Fedoreyev S.A., Stonik V.A., Han J. *Mar. Drugs.* **2018**, *17*, 2 doi 10.3390/md17010002
 10. Mukai T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1960**, *33*, 453–456. doi 10.1246/bcsj.33.453
 11. Mukai T. *Bull. Chem. Soc. Jpn.* **1960**, *33*, 1234–1235. doi 10.1246/bcsj.33.1234
 12. Артюков А.А., Купера Е.В., Руцкова Т.А., Маханьков В.В., Глазунов В.П., Козловская Э.П., Кольцова Е.А. Пат. 2411939 (2009). РФ. *Б.И.* **2011**, № 5.
 13. Sabutski Yu.E., Semenova M.N., Yurchenko E.A., Polonik N.S., Denisenko V.A., Dmitrenok P.S., Semenov V.V., Polonik S.G. *Nat. Prod. Commun.* **2017**, *12*, 1081–1088. doi 10.1177/1934578X1701200721
 14. Moore R.E., Singh H., Chang C.W.J., Scheuer P.J. *Tetrahedron.* **1967**, *23*, 3271–3305.
 15. Smith I., Thomson R.H. *J. Chem. Soc. (C).* **1961**, 1008–1012. doi.org/10.1039/JR9610001008
 16. Минкин В.И., Олехнович Л.П., Жданов Ю.А. *ЖВХО.* **1977**, *22*, 273–295.
 17. Utkina N.K., Pokhilo N.D. *Nat. Prod. Commun.* **2012**, *7*, 901–904. doi 10.1177/1934578X1200700725

Preparative Monomethylation of 2,3,5,6,7,8-Hexahydroxynaphthalene-1,4-dione (Spinochrome E). First Direct Synthesis of Namakochrome: The Natural Pigment of Holothurian *Polycheira rufescens*

S. G. Polonik*, V. A. Denisenko, R. S. Popov, A. A. Artjukov, and Y. E. Sabutskii

G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry FEB RAS,
690022, Russia, Vladivostok, Prospect 100 let Vladivostoku 159
*e-mail: sergpol@piboc.dvo.ru

Received July 27, 2019; revised December 13, 2019; accepted December 16, 2019

A 4-step preparative conversion of available sea urchins pigment Spinochrome E in to namakochrome – the pigment of holothurians *Polycheira rufescens* was developed. Spinochrome E was converted to hexaacetate, one acetate group at the β -position of quinone core of hexaacetate was selectively removed, the resulting pentaacetate was treated with diazomethane and all protective acetate groups were removed by treatment in HCl/MeOH solution. The total yield of namakochrome at 4-steps was ~ 46–51%.

Keywords: spinochrome E, 2,3,5,6,7,8-hexahydroxynaphthalene-1,4-dione, namakochrome, 2,5,6,7,8-pentahydroxy-3-methoxynaphthalene-1,4-dione, pigment, holothurian *Polycheira rufescens*