



ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2014131665/04, 30.07.2014

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
30.07.2014

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 30.07.2014

(45) Опубликовано: 27.08.2015 Бюл. № 24

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: I.Singh et al: "The Synthesis of Spinochromes A, C, D, and E". Journal of the American chemical Society, 1965, 87(17), 4023,4024. Борисова К.Л. и др.: "Простой препаративный синтез спинохрома E-пигмента морских ежей рода Echinothrix". Химия природных соединений, 2012, N2, 187-189. RU 2411939C1, 20.02.2011 . СН 654998A5, 27.03.1986

Адрес для переписки:

690022, г. Владивосток, пр-кт 100 лет
Владивостоку, 159, ФГБУН ТИБОХ ДВО РАН,
зав. патентным отделом Стадниченко Н.И.

(72) Автор(ы):

Шестак Ольга Петровна (RU),
Новиков Вячеслав Леонидович (RU),
Ануфриев Виктор Филиппович (RU)

(73) Патентообладатель(и):

Федеральное государственное бюджетное
учреждение науки Тихоокеанский институт
биоорганической химии им. Г.Б. Елякова
Дальневосточного отделения Российской
академии наук (ТИБОХ ДВО РАН) (RU)

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ СПИНОХРОМА E

(57) Реферат:

Изобретение относится к способу получения спинохрома E (2,3,5,6,7,8-гексагидрокси-1,4-нафтохинона) - одного из нафтохиноидных пигментов морских ежей, обладающего высокой антиоксидантной и антирадикальной активностью и перспективного для использования в кардиологии и офтальмологии. В предлагаемом способе в качестве исходного соединения используют нафтазарин или 2,3-дихлорнафтазарин, который хлорируют под действием хлора, получаемого in situ окислением соляной кислоты активным диоксидом марганца

в ледяной уксусной кислоте, в образовавшемся при этом 2,3,6,7-тетрахлорнафтазарине замещают все атомы хлора на метоксигруппы действием метанола, активированного фторидом цезия на поверхности оксида алюминия, и полученный 2,3,6,7-тетраметоксинафтазарин гидролизуют в целевой продукт кипячением в концентрированной бромистоводородной кислоте в течение 10-15 мин. Предлагаемый способ позволяет получить целевой продукт с высоким выходом при использовании простой и безопасной технологии. 2 пр.

RU 2 561 280 C1

RU 2 561 280 C1



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(19) **RU** (11) **2 561 280**⁽¹³⁾ **C1**

(51) Int. Cl.
C07C 50/12 (2006.01)
C07C 46/00 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: 2014131665/04, 30.07.2014

(24) Effective date for property rights:
30.07.2014

Priority:

(22) Date of filing: 30.07.2014

(45) Date of publication: 27.08.2015 Bull. № 24

Mail address:

690022, g. Vladivostok, pr-kt 100 let Vladivostoku,
159, FGBUN TIBOKh DVO RAN, zav. patentnym
otdelom Stadnichenko N.I.

(72) Inventor(s):

**Shestak Ol'ga Petrovna (RU),
Novikov Vjacheslav Leonidovich (RU),
Anufriev Viktor Filippovich (RU)**

(73) Proprietor(s):

**Federal'noe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
uchrezhdenie nauki Tikhookeanskij institut
bioorganicheskoj khimii im. G.B. Eljakova
Dal'nevostochnogo otdelenija Rossijskoj
akademii nauk (TIBOKh DVO RAN) (RU)**

(54) **METHOD OF PRODUCING SPINOCHROME E**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry.

SUBSTANCE: invention relates to a method of producing spinochrome E (2,3,5,6,7,8-hexahydroxy-1,4-naphthoquinone) - one of the naphthoquinoid pigments of sea urchins, having high antioxidant and antiradical activity and potential for use in cardiology and ophthalmology. The source compound used in the present method is naphthazarin or 2,3-dichloronaphthazarin, which is chlorinated under the action of chlorine obtained in situ by oxidising hydrochloric acid with active manganese dioxide in

glacial acetic acid; in the formed 2,3,6,7-tetrachloronaphthazarin, all chlorine atoms are substituted with methoxy groups under the action of methanol which is activated with caesium fluoride on an aluminium oxide surface, and the obtained 2,3,6,7-tetramethoxynaphthazarin is hydrolysed into the end product by boiling in concentrated hydrobromic acid for 10-15 min.

EFFECT: method enables to obtain the end product with high output using a simple and safe technique.

2 ex

RU 2 561 280 C1

RU 2 561 280 C1

Изобретение относится к органической химии и касается способа получения спинохрома Е (2,3,5,6,7,8-гексагидрокси-1,4-нафтохинона) - одного из пигментов, продуцируемых морскими ежами различных видов [1а-в]. Спинохром Е был впервые обнаружен в иглах морского ежа Ледерером [2]. Позже Смит и Томсон установили

5

структуру этого пигмента и определили его свойства [3]. Среди 5 классов типа Echinodermata (иглокожие) морские ежи (echinoids) привлекают наибольшее внимание исследователей. Этот класс животных синтезирует преимущественно полигидрокси-1,4-нафтохиноны, в основе структуры которых лежит либо 5-гидрокси-1,4-нафтохинон (юглон), либо 5,8-дигидрокси-1,4-нафтохинон

10

15

(нафтазарин), а заместителями являются амино-, ацетильные, гидрокси-, метокси-метильные и этильные группы. К настоящему времени около 30 таких пигментов выделено из морских ежей различных видов [4, 5]. Полигидрокси-1,4-нафтохиноны морских ежей, в том числе спинохром Е, проявляют высокую антиоксидантную и антирадикальную активность и представляют новый класс природных антиоксидантов

20

[4-11]. Среди нафтохиноидных пигментов морских ежей найдено много соединений с высокой антиаллергической [12, 13], антимикробной [14], антиаллергической [15], цитотоксической [1а] и кардиопротективной [16-20] активностью. На основе эхинохрома А (2,3,5,6,8-пентагидрокси-7-этил-1,4-нафтохинона) - одного

25

из метаболитов морских ежей созданы эффективные отечественные лекарственные

30

препараты: Гистохром кардиологический[®] для лечения острого инфаркта миокарда и ишемической болезни сердца и Гистохром офтальмологический[®] для лечения пролиферативных и дегенеративных процессов, включая катаракту, и кровоизлияний различной природы в тканях глаза [21].

Интересно отметить, что икра и гонады морских ежей, содержащие полигидрокси-1,4-нафтохиноны, в том числе спинохром Е, используются как высокоценные деликатесные продукты питания в Японии, Китае и ряде стран Юго-Восточной Азии [4, 11].

35

Однако широкое практическое использование полигидрокси-1,4-нафтохинонов морских ежей ограничивается их малой доступностью. Возможны два пути получения этих природных соединений: либо извлечением из природных объектов (морских ежей), либо через полный органический синтез. Известен способ получения спинохрома Е из природного объекта, в котором в качестве сырья используют отходы переработки промысловых морских ежей *Strongylocentrotus nudus* [22]. Сырье дефростируют или отделяют от консервантов

40

декантацией, промывают водой, обезжиривают 96% этиловым спиртом (EtOH), экстрагируют трехкратно 96% EtOH с добавлением H_3PO_4 (pH 3.0-3.5) при соотношении сырье:экстрагент 1.0:(1.0-1.2) в течение 12-24 ч. Полученный экстракт пропускают через колонку с хитозаном, промывают колонку 96% EtOH, затем элюируют пигмент 96% EtOH с добавлением соляной кислоты (pH 2-4). Далее элюат пропускают через колонку с полихромом-1, промывают колонку дистиллированной водой, затем элюируют целевой продукт 40-50% водным раствором EtOH, отгоняют растворитель в вакууме, водный остаток лиофилизируют. Затем спинохром Е сублимируют при 195-200°C или перекристаллизовывают из EtOH. Выходы спинохрома Е из 100 кг сырья (панцири и

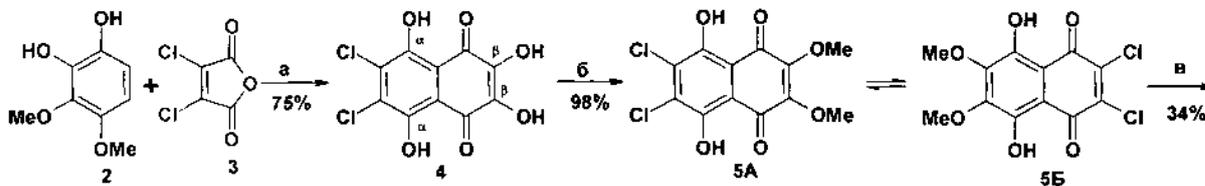
45

иглы морских ежей *Strongylocentrotus nudus*, оставшиеся после извлечения икры) составляют 19-24 г (0.019-0.024% от веса исходного сырья). Данный способ получения спинохрома Е является длительным, многостадийным и характеризуется низким выходом целевого продукта. Его широкомасштабное

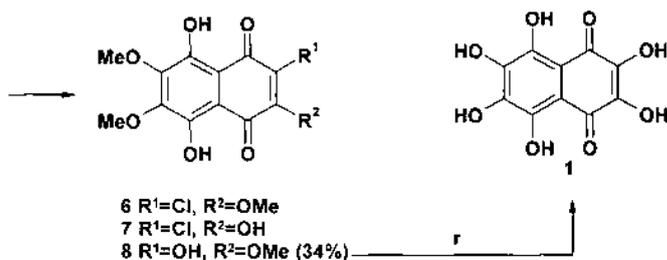
применение неизбежно приведет к возникновению экологической проблемы, как и всякий способ получения природных продуктов из некультивируемых морских животных.

Известны также два способа получения спинохрома E путем полного синтеза.

5



10



15

Реагенты и условия: а) $\text{AlCl}_3\text{-NaCl}$, 190-195°C, 4 мин; б) CH_2N_2 , серный эфир, 22°C; в) MeONa , абс. MeOH , кипячение, 48 ч, N_2 ; г) конц. HBr , кипячение, 2 ч.

20

Схема 1

Первый из них (схема 1) заключается в циклоацировании 1,2-дигидрокси-3,4-диметоксибензола 2 дихлормалеиновым ангидридом 3 в расплаве безводного AlCl_3 и NaCl , метилировании β -ОН-групп полупродукта 4, нуклеофильном замещении атомов хлора в полученном нафтазарине 5 на метоксигруппы и расщеплении О-Ме связей в полученном триэфире 8 [23, 24].

25

Суммарный выход спинохрома E в этом 4-х-стадийном способе получения оценить невозможно, поскольку выход 1 на стадии гидролиза 8→1 авторами не указан. Данный способ непригоден для препаративного получения спинохрома E 1, поскольку для того, чтобы конвертировать дихлорнафтазарин 5 в триэфир 8, необходимо применять огромный избыток насыщ. раствора MeONa в абс. MeOH . Так, раствор дихлорнафтазарина 5 (80 мг, 0.25 ммоль) в насыщ. растворе MeONa в MeOH (800 мл, 3125.0 ммоль) кипятили в течение 48 час, чтобы добиться замещения обоих атомов хлора на метоксигруппы. Даже при такой длительной обработке авторам не удалось полностью конвертировать дихлорнафтазарин 5 в ожидаемый тетраметиловый эфир спинохрома E. В результате этой реакции получалась смесь 3-х продуктов 6-8. Триэфир 8 был выделен из смеси продуктов в количестве 34 мг (34%) препаративной ТСХ на пластинках с деактивированным SiO_2 . Все попытки улучшить соотношение субстрат 5:реагент (насыщ. раствор MeONa в MeOH) оказались безуспешными.

30

35

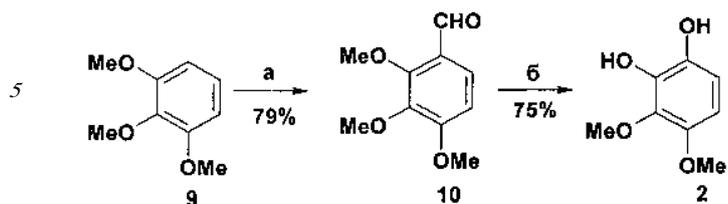
40

Невыгодное соотношение субстрат: реагент на стадии конверсии 5→8 делает этот способ получения спинохрома E не имеющим практического значения. Он может использоваться лишь для получения аналитических образцов спинохрома E. Действительно, если для получения 34 мг триэфира 8 из 80 мг субстрата 5 необходимо было использовать 800 мл насыщ. раствора MeONa в MeOH , то для получения, например, 1 г триэфира 8 необходимо использовать 24 л насыщенного раствора MeONa в MeOH .

45

Следует отметить, что дигидроксидиметоксибензол 2, используемый в синтезе спинохрома E, не является товарным продуктом и его получение включает в себя две

стадии: формилирование товарного 1,2,3-триметоксибензола 9 и последующее окисление образующегося альдегида 10. Данный процесс представлен на схеме 2.



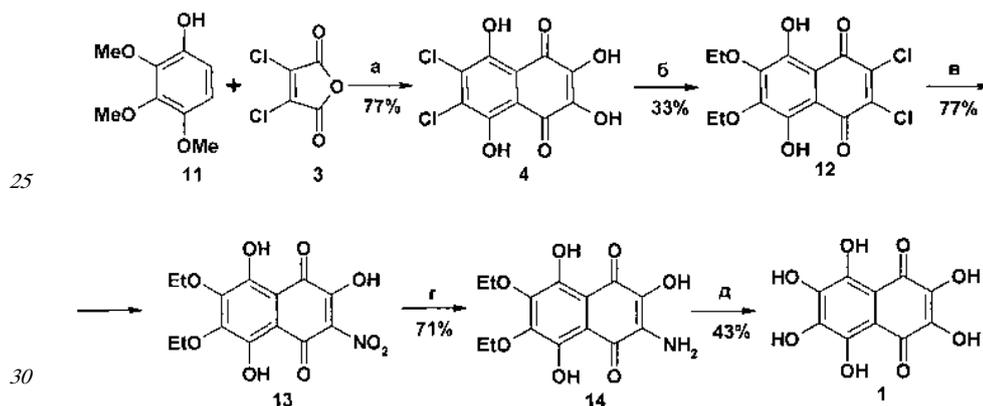
Реагенты и условия: а) POCl_3 , HCO-NMe_2 , 100°C , 4 ч; б) 33% H_2O_2 , NaOH , 50°C , 5 ч.

10 Схема 2

С учетом этого синтез спинохрома Е по методу Шоера и соавт. включает в себя 6 стадий.

Второй из способов получения спинохрома Е, представленный на схеме 3, заключается в циклоацилировании триметоксифенола 11 ангидридом 3, этилировании β -ОН-групп полученного дигидрокси-дихлорнафтазарина 4, замещении атомов хлора в полученном диэфире 8 на гидрокси- и нитрогруппы, восстановлении полученного нитронафтазарина 13 и конверсии полученного аминафтазарина 14 в целевой спинохроме Е 1 с последующим кипячением объединенных экстрактов, полученных при извлечении продукта 1 5% HCl [25].

20



30

Реагенты и условия: а) $\text{AlCl}_3\text{-NaCl}$, $190\text{-}195^\circ\text{C}$, 3 мин; б) $(\text{EtO})_3\text{CH}$, кипячение, 2 ч; в) NaNO_2 , $\text{EtOH} - \text{H}_2\text{O}$ (2:1), кипячение, 1 ч; г) $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$, H_2O , 22°C , 30 мин; д) безв. AlCl_3 , безв. PhNO_2 , 70°C , 6 ч, затем 5% HCl , кипячение, 10 мин.

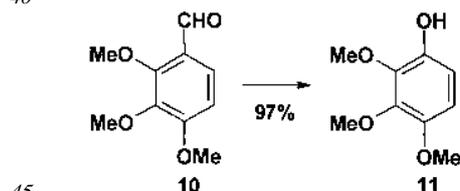
35

Схема 3

Этот способ получения спинохрома Е позволяет получать его в 5 стадий, исходя из фенола 11, с суммарным выходом 6%.

Исходный фенол 11 не является товарным реактивом. Его можно получить окислением триметоксибензальдегида 10 пероксидом водорода (схема 4) [26].

40



Реагенты и условия: 33% H_2O_2 , конц. H_2SO_4 , MeOH , 22°C , 1.5 ч.

Схема 4

С учетом этого данный синтез спинохрома Е включает в себя в общей сложности 6

стадий.

Оба описанных в литературе способа синтеза спинохрома Е используют один и тот же метод синтеза стартового дигидроксидихлорнафтазарина 4, в котором далее блокируют β-гидроксильные группы и замещают атомы хлора. На стадии нуклеофильного замещения атомов хлора эти способы синтеза имеют очень существенные отличия, которые определяют и дальнейшие различия в методологии превращения полученных на этой стадии полупродуктов в целевой спинохром Е.

Первый из описанных способов синтеза спинохрома Е наиболее близок к заявляемому способу по сути выполняемых операций и выбран нами в качестве прототипа.

Недостатки способа-прототипа заключаются в следующем:

1) непригодность для препаративного использования, поскольку практически неприемлемое соотношение субстрат 5:реагент (насыщ. раствор MeONa в MeOH) на стадии конверсии 5→8 ограничивает синтетические возможности этого способа.

Для получения насыщ. раствора MeONa в MeOH, требуемого для синтеза граммовых количеств спинохрома Е по способу-прототипу, необходимо использовать от нескольких десятков до сотен граммов агрессивного и пожароопасного металлического натрия и большие объемы (от десятков до сотен литров) метилового спирта;

2) использование на стадии защиты β-гидроксильных групп полупродукта 4 (стадия 4→5) токсичного диазометана и пожароопасного серного эфира;

3) применение большого числа стадий для получения спинохрома Е (6 стадий), и его низкий суммарный выход.

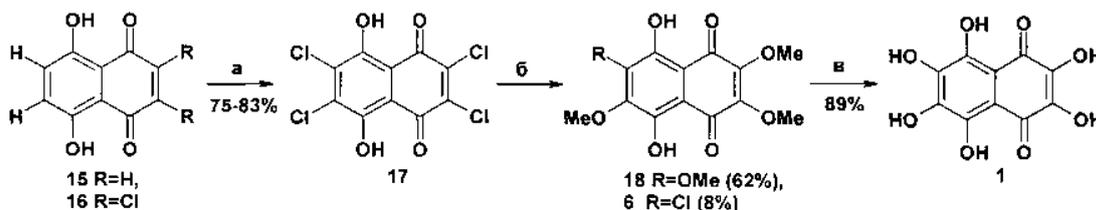
Хотя авторы не указали выхода спинохрома Е на стадии гидролиза триметилового эфира 8→1, эффективность этой стадии его синтеза в условиях способа-прототипа была оценена нами (78% от теор.), что позволило рассчитать и общий выход спинохрома Е на 6 стадий в способе-прототипе (10% от теор.).

Задачей изобретения явилась разработка способа получения спинохрома Е, свободного от недостатков способа-прототипа.

В заявляемом способе получения спинохрома Е в качестве исходного соединения используют нафтазарин или 2,3-дихлорнафтазарин, который хлорируют под действием хлора, получаемого *in situ* окислением соляной кислоты активным диоксидом марганца в ледяной уксусной кислоте, в образовавшемся при этом 2,3,6,7-тетрахлорнафтазарине замещают все атомы хлора на метоксигруппы действием метанола, активированного фторидом цезия на поверхности оксида алюминия, и полученный 2,3,6,7-тетраметоксинафтазарин гидролизуют в целевой продукт кипячением в концентрированной бромистоводородной кислоте в течение 10-15 мин.

Суммарный выход спинохрома Е составляет от 41 до 46% (в зависимости от используемого субстрата 15 или 16) на три стадии 15(16)→17→18-1.

Заявляемый способ представлен на схеме 5.



45 Реагенты и условия: а) активный MnO₂, конц. HCl+лед. HOAc (1:1, по объему), т. кип., 2 ч; б); абс. MeOH - CsF - нейтр. Al₂O₃, 95°C, 60 ч; в) 48% HBr, т. кип., 15 мин.

Схема 5

В качестве исходного соединения используют коммерчески доступный нафтазарин 15 (каталог фирмы «Alfa Aesar» 2011-2013 года, стр. 893), или 2,3-дихлорнафтазарин 16 (каталог фирмы «Aldrich» 2012-2014 года, стр. 923). Нафтазарин 15 и 16 ранее не применялись в качестве исходных субстратов в синтезах спинохрома E.

5 Для конверсии нафтазарина 15 в тетрахлорнафтазарин 17 нами был опробован ряд методов хлорирования, в которых использовались следующие реагенты: $\text{Cl}_2\text{O}/\text{CF}_3\text{COOH}$, $\text{Cl}_2\text{O}/\text{конц. H}_2\text{SO}_4+\text{HOAc}$ (1:1, по объему), газообразный Cl_2/HOAc , газообразный $\text{Cl}_2/90\% \text{H}_2\text{SO}_4+\text{J}_2$, $\text{K}_2\text{Cr}_2\text{O}_7/\text{конц. HCl}+\text{HOAc}$, $\text{KMnO}_4/\text{конц. HCl}+\text{HOAc}$, товарный $\text{MnO}_2/\text{конц. HCl}+\text{HOAc}$, активный $\text{MnO}_2/\text{конц. HCl}+\text{HOAc}$. Наилучшие результаты были
10 получены при действии молекулярного Cl_2 , генерируемого *in situ* окислением HCl активным диоксидом марганца в растворе в HOAc.

При использовании товарного MnO_2 выход тетрахлорнафтазарина 17 колебался в интервале 55-60%. Замена товарного MnO_2 на активный MnO_2 , полученный по методу
15 Аттенборо [27], позволила увеличить выход тетрахлорнафтазарина 17 до 75-77%.

При использовании в качестве стартового соединения 2,3-дихлорнафтазарина 16 хлорирование субстрата под действием системы реагентов активный MnO_2 - конц. HCl - лед. HOAc протекает в тех же условиях, что и в случае нафтазарина 15 (т. кип., 2 ч),
20 более эффективно, давая тетрахлорнафтазарин 17 с выходами 81-83%.

Полное замещение четырех атомов хлора в субстрате 17 на метоксигруппы осуществлялось под действием метанола, активированного CsF на поверхности Al_2O_3 при 95°C в течение 60 ч. Выход тетраэфира 18 составил 62% при конверсии субстрата 92%. Проведение реакции в течение 40 ч дает 2,3,6,7-тетраметоксинафтазарин 18 с
25 выходом 45-50%, причем конверсия субстрата не превышала 78%. Впервые эта система реагентов была использована для нуклеофильного замещения атомов хлора в 2,3-дихлорзамещенных нафтазаринах авторами работы [28]. Для замещения четырех атомов хлора на метоксигруппы в субстрате 17 эта система реагентов ранее не применялась и результат ее применения для данного субстрата не является очевидным.

30 2,3,6,7-Тетраметоксинафтазарин 18 является известным соединением. Ранее его получали из природного спинохрома E 1 через метилирование диазометаном [3].

Конверсия тетраэфира 18 в спинохром E 1 осуществлялась при кипячении субстрата 18 в растворе 48% HBr в течение 10-15 мин. Из опробованных методов расщепления O-Me связей метоксигрупп субстрата 18 (безв. AlCl_3 в сухом $\text{C}_6\text{H}_5\text{NO}_2$ при нагревании; безв. AlCl_3 в смеси $\text{C}_2\text{H}_5\text{SH}$ и CH_2Cl_2 при 22°C; насыщ. раствор сухого HBr в лед. HOAc при нагревании; 48% HBr в смеси с лед. HOAc (1:1, по объему) при нагревании; 48% HBr при нагревании) последний метод оказался наилучшим. Ранее его уже использовали в синтезе спинохрома E 1 из триметилового эфира спинохрома E 8 (конверсия 8→1, схема 1) [23, 24]. Однако авторы этих работ проводили деметилирование субстрата 8
40 под действием 48% HBr при кипячении в течение 2 ч, причем выход спинохрома E не был указан. Мы исследовали эту реакцию повторно. Триметиловый эфир спинохрома E 8 был получен частичным гидролизом тетраметилового эфира спинохрома E 18 под действием 1% водного раствора NaOH. Оказалось, что как триэфир 8, так и тетраэфир 18 при кипячении в растворе в 48% HBr полностью превращаются в спинохром E в
45 течение 10-15 мин с выходами 88 и 89% соответственно. Если же реакцию гидролиза триэфира 8 проводить в условиях способа-прототипа (48% HBr, т. кип. 2 ч), то выход спинохрома E снижается (до 78% от теор.). Таким образом, время реакции на этой стадии может быть уменьшено в 8 раз по сравнению со способом-прототипом.

Тетраэфир 18 этой процедуре ранее не подвергался.

Новизна предлагаемого метода синтеза спинохрома E заключается в применении новой комбинации стадий синтеза, в каждой из которых используются известные соединения, не применявшиеся, однако, ранее в синтезах спинохрома E, а также в подборе реагентов и условий проведения стадий, что в итоге привело к появлению неочевидного результата.

Использование тетрахлорнафтазарина в качестве ключевого субстрата для нуклеофильного замещения атомов хлора позволяет отказаться от защиты β -гидроксигрупп с помощью раствора диазومتана в диэтиловом эфире, как это делалось в случае дигидроксидихлорнафтазарина в способе-прототипе. Кроме того, применение метанола, активированного фторидом цезия на поверхности оксида алюминия, для замещения атомов хлора на метоксигруппы в тетрахлорнафтазарине вместо конц. раствора метилата натрия в метаноле для замещения атомов хлора в диметоксидихлорнафтазарине, как в способе-прототипе, кардинально улучшает соотношение субстрат-реагент на этой стадии и повышает выход продукта. Все это делает способ получения спинохрома E более простым и безопасным.

Технический результат, обеспечиваемый изобретением, заключается в упрощении способа получения спинохрома E, а именно в уменьшении числа стадий с шести в способе-прототипе до трех и увеличении выхода целевого соединения в 4.1-4.6 раз по сравнению со способом-прототипом (41-46% и 10% соответственно).

Сведения, подтверждающие возможность осуществления изобретения:

Пример 1. Хлорирование нафтазарина 15. К раствору нафтазарина 15 (3.80 г, 20.0 ммол) в 200 мл ледяной HOAc и 100 мл 36% HCl прибавляют тонкоизмельченный активный MnO₂ (6.96 г, 80.0 ммол) [27], и смесь кипятят при перемешивании в течение 1 ч. После этого прибавляют дополнительное количество активного MnO₂ (1.74 г, 20.0 ммол) и конц. HCl (25 мл) и смесь кипятят при перемешивании еще в течение 1 ч. Смесь охлаждают до комнатной температуры и выдерживают при 5°C в течение ночи. Осадок отделяют на фильтре, промывают водой (3×10 мл) и высушивают. В результате получают 4.20 г (64%) 2,3,6,7-тетрахлорнафтазарина 17 в виде блестящих темнокрасных игл, т. пл. 258°C (лит. [27], 244°C). R_f: 0.65 (гексан-ацетон, 2:1 (по объему)). ИК-спектр (CDCl₃, ν , см⁻¹): 3400-2250 (OH), 1627 (C=O, C=C), 1568 (C=C), 1405. Спектр ЯМР ¹H (300 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 12.88 (с, 2H, 2 α -OH). Спектр ЯМР ¹³C (75 МГц, CDCl₃, δ , м.д.): 109.2 (C-4a, C-8a), 139.1 (C-2, C-3, C-6, C-7), 167.2 (C-1, C-4, C-5, C-8). Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ, m/z, I_{отн.} (%)): 327/329/331/333/335 [M+H]⁺ (58), 326/328/330/332/334 [M]⁺ (100), 292/294/296/298 [M+H-Cl]⁺ (20), 291/293/295/297 [M-Cl]⁺ (61), 257/259/261 [M+H-2Cl]⁺ (5), 256/258/260 [M-2Cl]⁺ (17). Найдено (%): C, 36.68; H, 0.64; Cl, 43.34. C₁₀H₂Cl₄O₄. Вычислено (%): C, 36.63; H, 0.61; Cl, 43.24.

После отделения кристаллов фильтрат разбавляют водой (300 мл), экстрагируют CHCl₃ (4×90 мл), объединенные экстракты промывают водой (3×30 мл), высушивают над безв. Na₂SO₄ и растворитель удаляют при пониженном давлении. Остаток хроматографируют на колонке с SiO₂ (G-60 фирмы «Lancaster», 60-200 μ m). Элюция смесью гексан-ацетон 25:1 дает дополнительное количество 2,3,6,7-тетрахлорнафтазарина 17 (0.72 г, 11%), идентичного во всех отношениях описанному выше. Суммарный выход продукта 17 составил 75%.

Нуклеофильное замещение атомов хлора в тетрахлорнафтазарине 17 на

метоксигруппы. Смесь хорошо высушенного тетрахлоронафтазарина 17 (1.88 г, 6.0 ммол), безвод. CsF (9.78 г, 64.0 ммол), активного нейтрального Al_2O_3 (12.20 г, 112.0 ммол, 150 меш, фирмы «Aldrich») и абс. MeOH (300 мл) перемешивают в герметичном сосуде при 95°C в течение 60 ч. После охлаждения до комнатной температуры адсорбент отделяют фильтрованием и последовательно промывают ацетоном (150 мл) и 10%-ной HCl (6 мл). Объединенные фильтраты концентрируют при пониженном давлении, остаток разбавляют водой (300 мл) и экстрагируют $CHCl_3$ (5×80 мл). Органический экстракт промывают последовательно водой (3×40 мл) и насыщ. раствором NaCl (40 мл), высушивают над безвод. Na_2SO_4 и концентрируют досуха. Остаток хроматографируют на колонке с SiO_2 (G-60, 2.5×80 см), заполненной н-гексаном. Элюция смесью гексан-ацетон, 15:1 (по объему) дает 5,8-дигидрокси-2,3,6-триметокси-7-хлоро-1,4-нафтохинон 6 (0.16 г, 8%) в виде легких коричневых игл, т. пл. 127-129°C (лит. [24], 140-141°C). R_f : 0.56 (гексан-ацетон, 2:1). ИК-спектр ($CDCl_3$, ν , cm^{-1}): 3400-2250 (ОН), 1607 (C=O, C=C), 1549 (C=C), 1401. Спектр ЯМР 1H (300 МГц, $CDCl_3$, δ , м.д.): 4.11 (с, 3H, OMe), 4.14 (с, 3H, OMe), 4.18 (с, 3H, OMe), 12.86 (с, 1H, C(8)-ОН), 13.11 (с, 1H, C(5)-ОН). Спектр ЯМР ^{13}C (75 МГц, $CDCl_3$, δ , м.д.): 61.9 (C(6)-OMe), 62.0 (C(2)-OMe, C(3)-OMe), 106.5 (C-4a), 109.0 (C-8a), 129.5 (C-7), 147.7 (C-2), 148.4 (C-3), 154.8 (C-6), 159.4 (C-5), 161.7 (C-8), 177.0 (C-1), 178.1 (C-4). Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ, m/z , $I_{отн.}$ (%)): 315/317 $[M+H]^+$ (22), 314/316 $[M]^+$ (100), 313/315 $[M-H]^+$ (19), 299/301 (22), 296/298 (29), 286 (9), 257 (16), 256 (16). Найдено (%): C, 49.78; H, 3.62; Cl, 11.38. $C_{13}H_{11}ClO_7$. Вычислено (%): C, 49.62; H, 3.52; Cl, 11.27.

Элюция смесью гексан-ацетон, 8:1 дает 2,3,6,7-тетраметоксинафтазарин 18 (1.16 г, 62%) в виде красных игл, т. пл. 180-182°C (лит. [24], 185-186°C). R_f : 0.52 (гексан-ацетон, 2:1), 0.70 (гексан-бензол-ацетон, 1:1:1). ИК-спектр ($CDCl_3$, ν , cm^{-1}): 3400-2250 (ОН), 1604 (C=O, C=C), 1554 (C=C), 1456, 1416, 1360, 1290, 1211, 1161, 1088. Спектр ЯМР 1H (300 МГц, $CDCl_3$, δ , м.д.): 4.09 (с, 12H, 4 OMe), 12.98 (с, 2H, 2 α -ОН). Спектр ЯМР ^{13}C (75 МГц, $CDCl_3$, δ , м.д.): 61.6 (4 OMe), 106.4 (C-4a, C-8a), 148.0 (C-2, C-3, C-6, C-7), 169.2 (C-1, C-4, C-5, C-8). Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ, m/z , $I_{отн.}$ (%)): 311 $[M+H]^+$ (18), 310 $[M]^+$ (100), 295 (17), 292 (13), 282 (6), 280 (8), 277 (14), 257 (11), 256 (13). Найдено (%): C, 54.30; H, 4.51. $C_{14}H_{14}O_8$. Вычислено (%): C, 54.20; H, 4.55.

Конверсия тетраметоксинафтазарина 18 в спинохром Е 1. Смесь тетраэфира 18 (1.18 г, 3.8 ммол) и 48% НВг (120 мл) доводят до кипения. При этом через 1 мин тетраэфир 18 полностью растворяется. Образовавшийся прозрачный темнокрасный раствор кипятят в течение 15 мин и охлаждают до комнатной температуры. Раствор разбавляют водой (150 мл) и выдерживают при 5°C в течение ночи. Осадок отфильтровывают, промывают водой (5×6 мл) и высушивают. Получено 1.06 г (89%) 2,3,5,6,7,8-гексагидрокси-1,4-нафтохинона (спинохрома Е) в виде красно-коричневых игл, т. пл. >360°C (лит. [24], сублимируется при 300-320°C). R_f : 0.32 (гексан-бензол-ацетон, 1:1:1 (по объему)). Спектр ЯМР 1H (300 МГц, $DMSO-d_6$, δ , м.д.): 10.15 (уш. с, 4H, 4 β -ОН), 12.83 (с, 2H, 2 α -ОН). Спектр ЯМР ^{13}C (75 МГц, $DMSO-d_6$, δ , м.д.): 102.3 (C-4a, C-8a), 140.7 (C-2, C-3, C-6, C-7), 166.4 (C-1, C-4, C-5, C-8). Масс-спектр (ЭУ, 70 эВ, m/z , $I_{отн.}$

(%): 254 [M]⁺ (100), 226 (67), 198 (7), 180 (6), 169 (7), 152 (8), 124 (8), 113 (8). Найдено (%): С, 47.37; Н, 2.31. С₁₀Н₆О₈. Вычислено (%): С, 47.26; Н, 2.38.

Пример 2. Хлорирование 2,3-Дихлоронафтазарина 16. К раствору 2,3-дихлоронафтазарина 16 (2.59 г, 10.0 ммол) в 100 мл ледяной НО Ас и 50 мл 36% НСl прибавляют тонкоизмельченный активный МпО₂ (3.48 г, 40.0 ммол), и смесь кипятят при перемешивании в течение 1 ч. После этого прибавляют дополнительное количество активного МпО₂ (0.87 г, 10.0 ммол) и конц. НСl (15 мл) и смесь кипятят при перемешивании еще 30 мин. Обработка реакционной смеси, аналогичная описанной выше для хлорирования нафтазарина 15, дает тетрахлоронафтазарин 17, идентичный во всех отношениях описанному выше в примере 1. Суммарный выход продукта 17 составляет в этом случае 2.72 г (83%).

Нуклеофильное замещение атомов хлора в тетрахлоронафтазарине 17 на метоксигруппы. Смесь хорошо высушенного тетрахлоронафтазарина 17 (0.94 г, 3.0 ммол), безв. CsF (4.89 г, 32.0 ммол), активированного нейтр. Al₂O₃ (6.10 г, 56.0 ммол, 150 меш, фирмы «Aldrich») и абс. MeOH (200 мл) перемешивают в герметичном сосуде при 95°C в течение 60 ч. После охлаждения до комнатной температуры адсорбент отделяют фильтрованием и последовательно промывают ацетоном (100 мл) и 10% НСl (3 мл). Объединенные фильтраты концентрируют при пониженном давлении, остаток разбавляют водой (200 мл) и экстрагируют СНCl₃ (5×50 мл). Органический экстракт промывают последовательно водой (3×20 мл) и насыщ. раствором NaCl (20 мл), высушивают над безв. Na₂SO₄ и концентрируют досуха. Остаток хроматографируют на колонке с SiO₂ (G-60, 2.5×80 см), заполненной n-гексаном. Элюция смесью гексан-ацетон 15:1 дает 5,8-дигидрокси-2,3,6-триметокси-7-хлоро-1,4-нафтохинон 6 (0.08 г, 8%), идентичный во всех отношениях описанному выше в примере 1.

Элюция смесью гексан-ацетон 8:1 дала 2,3,6,7-тетраметоксинафтазарин 18 (0.58 г, 62%), идентичный во всех отношениях описанному выше в примере 1.

Конверсия тетраметоксинафтазарина 18 в спинохром Е 1. Смесь тетраэфира 18 (0.59 г, 1.9 ммол) и 48% НВr (80 мл) доводят до кипения. При этом через 1 мин тетраэфир 18 полностью растворяют. Образовавшийся прозрачный темнокрасный раствор кипятят в течение 15 мин и охлаждают до комнатной температуры. Раствор разбавляют водой (100 мл) и выдерживают при 5°C в течение ночи. Осадок отфильтровывают, промывают водой (4×5 мл) и высушивают. Получено 0.53 г (89%) 2,3,5,6,7,8-гексагидрокси-1,4-нафтохинона (спинохрома Е), идентичного во всех отношениях описанному выше в примере 1.

Источники информации

[1] (a) Thomson R.H. Naturally occurring quíñones, 2nd Ed, 1971, Academic Press, London, New York; (б) 3rd Ed, 1987, Chapman & Hall, London, New York; (в) 4th Ed, 1997, Chapman & Hall; London, New York.

[2] Lederer E. // Compt. Rend. Acad. Sci. 1938, V. 2007, P. 454-456.

[3] Smith J., Thomson R.H. // Tetrahedron Lett, 1960, V. 1, No. 22, P. 10-12.

[4] Zhou D.Y., Qin L, Zhu B.W., Wang X.D., Tan H., Yang J.F., Li D.M., Dong X.P., Wu H.T., Sun L.M., Li X.L., Murata Y. // Food Chemistry, 2011, V. 129, P. 1591-1597.

[5] Utkina N.K., Pokhilo N.D. // Nat. Prod. Commun., 2012, V. 7, P. 901-904.

[6] Богуславская Л.В., Храпова Н.Г., Максимов О.Б. // Изв. АН СССР. Сер. хим., 1985, №7, С. 1471-1476.

[7] Лебедев А.В., Левицкая Е.Л., Тихонова Е.В., Иванова М.В. // Биохимия, 2001, Т.

66, С. 885-893.

[8] Hatate H., Murata H., Hama Y., Tanaka R., Suzuki N. // *Fisheries Science*, 2002, V. 68, P. 1641-1642.

[9] Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D.O. // *Life Sciences*, 2005, V. 76, P. 863-875.

5 [10] Lebedev A.V., Ivanova M.V., Levitsky D O. // *Hemoglobin*, 2008, V. 32, P. 165-179.

[11] Kuwahara R., Hatate H., Yuki T., Murata H., Tanaka R., Hama Y. // *LWT - Food Science and Technology*, 2009, V. 42, P. 1296-1300.

[12] Service M., Wardlaw A.C. // *Сотр. Biochem. Physiol.*, 1984, V. 79B, P. 161-165.

10 [13] Sime A.A.T. Biocidal compositions comprising polyhydroxynaphthoquinones. // GB Patent 2159056 (1985); *Chem. Abstr.*, 1986, V. 104, 83795.

[14] Стехова С.И., Шенцова Е.Б., Кольцова Е.А., Кулеш Н.И. // *Антибиотики и химиотерапия*, 1988, Т. 33, С. 831-833.

15 [15] Pozharitskaya O.N., Shikov A.N., Makarova M.N., Ivanova S.A., Kosman V.M., Makarov V.G., Bazgier V., Berka K., Otyepka M., Ulrichova J. // *Planta Medica*, 2013, V. 79, P. 1698-1704.

[16] Швилкин А.В., Афонская Н.И., Черпаченко Н.М., Садретдинов С.М., Новиков В.Л., Ануфриев В.Ф., Кольцова Е.А., Максимов О.Б., Левицкий Д.О., Руда М.Я. // *Кардиология*, 1991, Т. 31, №10, С. 81-82.

20 [17] Швилкин А.В., Серебрякова Л.И., Цкитишвили О.В., Садретдинов С.М., Кольцова Е.А., Максимов О.Б., Мищенко Н.П., Новиков В.Л., Левицкий Д.О., Руда М.Я. // *Кардиология*, 1991, Т. 31, №11, С. 79-81.

[18] SU 1822549 АЗ, опубл. 20.08.1996/.

[19] RU 1833544 С, опубл. 1993.

25 [20] Anufriev V.Ph., Novikov V.L., Maximov O.B., Elyakov G.B., Levitsky D.O., Lebedev A.V., Sadretdinov S.M., Shvilkin A.V., Afonskaya N.I., Ruda M.Y., Cherpachenko N.M. // *Bioorg. Med. Chem. Lett.*, 1998, V. 8, P. 587-592.

[21] Мищенко Н.П., Федореев С.А., Багирова В.Л. // *Хим.-фарм. журн.*, 2003, Т. 37, №1, С. 49-53.

[22] RU 2411939 C1, опубл. 20.02.2011.

30 [23] Singh I., Moore R.E., Chang C.W.J., Scheuer P.J. The synthesis of spinochromes A, C, D, and E // *J. Am. Chem. Soc.*, 1965, V. 87, No. 17, P. 4023-4024.

[24] Singh I., Moore R.E., Chang C.W.J., Ogata R.T., Scheuer P.J. Spinochrome synthesis // *Tetrahedron*, 1968, V. 24, No. 7, P. 2969-2978.

35 [25] Борисова К.Л., Ануфриев В.Ф. // *Химия природ, соединений*, 2012, №2, С. 187-189.

[26] Matsumoto M., Kobayashi H., Hotta J. // *J. Org. Chem.*, 1984, V. 49, No. 24, P. 4740-4741.

[27] Attenburrow J., Cameron A.F.B., Chapman J.H., Evans R.M., Hems B.A., Jansen A.B.A., Walker T. // *J. Chem. Soc.*, 1952, P. 1094-1111.

40 [28] Anufriev V.Ph., Novikov V.L. // *Tetrahedron Lett*, 1995, V. 36, No. 14, P. 2515-2518.

Формула изобретения

Способ получения спинохрома Е (2,3,5,6,7,8-гексагидрокси-1,4-нафтохинона), отличающийся тем, что в качестве исходного соединения используют нафтазарин или
45 2,3-дихлорнафтазарин, который хлорируют под действием хлора, получаемого in situ окислением соляной кислоты активным диоксидом марганца в ледяной уксусной кислоте, в образовавшемся при этом 2,3,6,7-тетрахлорнафтазарине замещают все атомы хлора на метоксигруппы действием метанола, активированного фторидом цезия на

поверхности оксида алюминия, и полученный 2,3,6,7-тетраметоксинафтазарин гидролизуют в целевой продукт кипячением в концентрированной бромистоводородной кислоте в течение 10-15 мин.

5

10

15

20

25

30

35

40

45