

005047842

На правах рукописи

Борисова Ксения Леонидовна

**Гидроксильированные нафтазарины в синтезе природных
хиноидных соединений и их аналогов**

02.00.03 – Органическая химия

Автореферат диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

20 ДЕК 2012

Владивосток – 2012

20

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН

Научный руководитель: доктор химических наук, старший научный сотрудник
Ануфриев Виктор Филиппович

Официальные оппоненты: **Каминский Владимир Абрамович**
доктор химических наук, профессор,
Дальневосточный федеральный университет, профессор Школы естественных наук

Агеенко Наталья Викторовна
кандидат химических наук,
Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Институт биологии моря им. А.В. Жирмунского ДВО РАН, научный сотрудник

Ведущая организация: Федеральное государственное бюджетное учреждение науки Новосибирский институт органической химии им. Н.Н. Ворожцова СО РАН, г. Новосибирск

Защита состоится 26 декабря 2012 г. в 10 часов на заседании диссертационного совета Д 005.005.01 при Федеральном государственном бюджетном учреждении науки Тихоокеанском институте биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН по адресу: 690022, г. Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку, 159, ТИБОХ ДВО РАН. Факс: (423)231-40-50, e-mail: dissovet@piboc.dvo.ru

С диссертацией можно ознакомиться в филиале Центральной научной библиотеки ДВО РАН (г. Владивосток, проспект 100 лет Владивостоку, 159, ТИБОХ ДВО РАН).

Текст автореферата размещен на сайте www.piboc.dvo.ru

Автореферат разослан «24» ноября 2012 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
к.б.н.



Черников О.В.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность проблемы. В лаборатории органического синтеза природных соединений ТИБОХ ДВО РАН им. Г.Б. Елякова на протяжении многих лет проводятся работы по синтезу и изучению химических свойств производных нафтазарина (5,8-дигидрокси-1,4-нафтохинона),* многие из которых известны как биологически активные соединения и лекарственные средства. (Поли)гидрокси- и аминопроизводные нафтазарина представляют особый интерес, поскольку многие из них встречаются в природе, а также являются ключевыми фрагментами, входящими в структуры природных соединений, и поэтому могут использоваться как стартовые вещества в синтезе последних.

Одним из таких веществ является кристазарин (2-гидрокси-7-метокси-3-этилнафтазарин), метаболит лишайника *Cladonia cristatella*. Кристазарин, в принципе, может служить исходным субстратом в синтезе целого ряда природных продуктов, в том числе исландохинона, одного из метаболитов лишайника *Cetraria islandica*. Этот продукт является представителем бихинонов нового структурного типа, в котором 1,4-нафтохиноидный и 2,3-дигидро-1,4-нафтохиноидный фрагменты связаны между собой эфирной связью. Интерес к исландохинону вызван тем, что структура его до настоящего исследования окончательно не установлена, хотя и вызывала споры. Корректировка, равно как и установление, строения вновь выделенных природных продуктов, является важной задачей биоорганической химии и химии природных соединений. Знание точной структуры вещества имеет ключевое значение в корреляционном анализе структура - активность, поэтому такие исследования актуальны как с научной, так и с практической точек зрения.

Определенный научный и практический интерес представляет также исследование химических свойств гидроксинафтазаринов, в частности реакций аминирования. Этот интерес стимулируется тем, что в последние годы в морских ежах обнаружены аминоксинафтазаринны, проявляющие высокую антиоксидантную активность.

Создание водорастворимых форм биоактивных хиноидных соединений является одним из направлений, развиваемых в ТИБОХ ДВО РАН. Широко используемым методом модификации структуры, придающей веществу растворимость, является *O*-гликозилирование. Однако, в отличие от *O*-гликозидов антрахинонов, гликозиды нафтазаринов являются относительно нестабильными соединениями, поэтому синтез структурно новых нафтохинон-углеводных конъюгатов негликозидной природы, растворимых в воде, является актуальной задачей.

* Структуры производных нафтазарина в данной диссертационной работе приводятся лишь в одной из всех возможных таутомерных форм.

Цель работы. Целью диссертационной работы явилась ревизия структуры исландохинона, одного из метаболитов лишайника *C. islandica*, изучение реакций производных спиназарина с водным аммиаком и синтез нафтохинон-углеводных конъюгатов негликозидной природы. Для достижения указанной цели необходимо решить следующие задачи: синтезировать и изучить структуры продуктов окислительной димеризации ряда 2-гидрокси-3-этилнафтазарина; синтезировать модельный диоксабензо[*a*]тетрацентетраон, характеристичные спектральные параметры которого хорошо согласовывались бы с таковыми для исландохинона; методом РСА установить структуру полученного продукта; синтезировать ряд моно- и дизамещенных производных спиназарина; установить строение продуктов, образующихся при взаимодействии полученных производных с водным аммиаком; разработать препаративный синтез спинохрома E; изучить реакцию переэтерификации эфиров гидроксинафтазаринов с модельным моносахаридом, содержащим первичную гидроксигруппу.

Научная новизна. Установлено, что конечными продуктами окислительной димеризации замещенных 2-гидрокси-3-этилнафтазаринов под действием диоксида свинца являются гидроксиэтилдиоксабензо[*a*]тетрацентетраоны, изомерные по взаимному расположению гидроксигруппы и этильного радикала при C-7а и C-13а.

Впервые синтезирован (7аS*,13аS*)-5,9,12,13а-тетрагидрокси-7,14-диокса-2,3,10,11-тетрахлоро-6,7а-диэтилбензо[*a*]тетрацен-1,4,8,13(7аH,13аH)-тетраон, структура которого определена методом РСА. Пересмотрена структура исландохинона, метаболита лишайника *C. islandica*, в пользу (7аS*,13аS*)-2,5,9,11,12,13а-гексагидрокси-7,14-диокса-6,7а-диэтилбензо[*a*]тетрацен-1,4,8,13(7аH,13аH)-тетраона.

Впервые синтезирован (7аS*,13аS*)-5,9,12,13а-гексагидрокси-2,11-диметокси-7,14-диокса-6,7а-диэтилбензо[*a*]тетрацен-1,4,8,13(7аH,13аH)-тетраон, диметилловый эфир исландохинона.

Установлено, что 6(7)-(ди)алкильные и 6(7)-(ди)алкоксильные производные 2,3-дигидроксинафтазарина в условиях реакции аминирования превращаются в производные 5,8-дигидроксиизохинолино-1,3,4(2H)-триона. Выявлено влияние гидроксигруппы при C-6(7) спиназаринов на направление реакции.

Разработан препаративный синтез спинохрома E, метаболита морских ежей рода *Echinothrix*.

Впервые синтезированы представители неизвестного ранее типа водорастворимых нафтохинон-углеводных конъюгатов негликозидной природы, в которых нафтазариновый и моносахаридный фрагменты связаны между собой простой эфирной связью с участием первичной гидроксигруппы углевода.

Практическая ценность работы. Практически важным результатом, полученным при изучении реакции окислительной димеризации замещенных 2-гидрокси-3-этилнафтазаринов под действием диоксида свинца, является уточнение структуры исландохинона, потенциального антиоксиданта, метаболита лишайника *C. islandica*. Кроме научного интереса, эта работа важна при поиске зависимости структура - активность в ряду производных этого бихинона. Выявленная конверсия 2,3-дигидрокси-нафтазаринов в производные 5,8-дигидроксиизохинолино-1,3,4(2*H*)-триона в условиях реакции аминирования открывает относительно простой путь к синтезу представителей этого класса соединений. Разработан препаративный синтез спинохрома E (гексагидрокси-1,4-нафтохинона), который является одним из компонентов природного комплекса, обладающего высокой антиоксидантной активностью. Синтез представителей неизвестного ранее типа нафтохинон-углеводных конъюгатов негликозидной природы открывает путь к новым относительно стабильным водорастворимым препаратам с потенциальной биологической активностью.

Апробация работы. Результаты исследований по теме диссертации были представлены в виде устного доклада на Всероссийской молодежной научной конференции «Актуальные проблемы органической химии» (Новосибирск, 9-14 июля 2012 года), а также стендовых сообщений на XIV Молодежной конференции по органической химии (Екатеринбург, 10-14 мая 2011 года) и Всероссийской молодежной научной конференции «Актуальные проблемы органической химии» (Новосибирск, 9-14 июля 2012 года).

Публикация результатов исследования. Основные результаты исследования опубликованы в 2 статьях в рекомендованных ВАК журналах и 3 тезисах в сборниках материалов научных конференций.

Структура диссертации. Диссертация изложена на 106 стр. машинописного текста, содержит 30 схем, 4 таблицы, 1 рисунок и состоит из введения, литературного обзора, обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов, списка литературы (169 ссылок) и приложения. Во введении приводится обоснование актуальности исследования, сформулированы его цель и конечные результаты. Литературный обзор посвящен нахождению в природе производных нафтазарина и их биологической активности, синтезам (поли)гидрокси-нафтазаринов путем: функционализации производных нафталина, использования ацилирования по Фриделю-Крафтсу, функционализации α -тетраленов, конротаторного раскрытия цикла замещенных циклобутенонов, бромирования алкилгидрокси-нафтазаринов в бензильное положение.

Сокращения и условные обозначения. ВМВС - внутримолекулярная водородная связь; ДМСО - диметилсульфоксид; ИК - инфракрасный; м.д. - миллионные доли; ММВС - межмолекулярная водородная связь; РСА -

рентгеноструктурный анализ; УФ - ультрафиолетовый ХС - химический сдвиг; ЯМР – ядерный магнитный резонанс; НМВС - ЯМР эксперимент гетероядерной корреляции через несколько связей; IC_{50} – концентрация полумаксимального ингибирования.

Благодарность за научное сотрудничество и помощь в работе. Автор выражает искреннюю признательность и благодарность научному руководителю, д.х.н. Ануфриеву В.Ф., сотруднику группы ЯМР спектроскопии, к.х.н. Денисенко В.А, сотруднику группы оптической спектроскопии, к.ф.-м.н. Глазунову В.П., сотруднице группы масс-спектрометрии н.с. Моисеенко О.П. и сотруднику лаборатории химии морских природных соединений ТИБОХ ДВО РАН м.н.с. Дышловому С.А. за оказанную помощь в работе.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Одной из задач настоящего диссертационного исследования явилась ревизия структуры исландохинона, метаболита лишайника *C. islandica*. Необходимо отметить, что рентгеноструктурный анализ исландохинона не был выполнен, и в распоряжении автора имелись только спектральные данные, которые в равной мере обосновывали четыре возможные для него структуры. Для того чтобы «привязаться» к структуре исландохинона, необходимо было синтезировать модельный диоксабензо[*a*]-тетрацентраон, характеристичные спектральные данные которого хорошо согласовывались бы с таковыми для исландохинона. РСА анализ структуры этого соединения, при условии хорошего совпадения характеристичных спектральных данных его и природного продукта, позволил бы установить строение последнего.

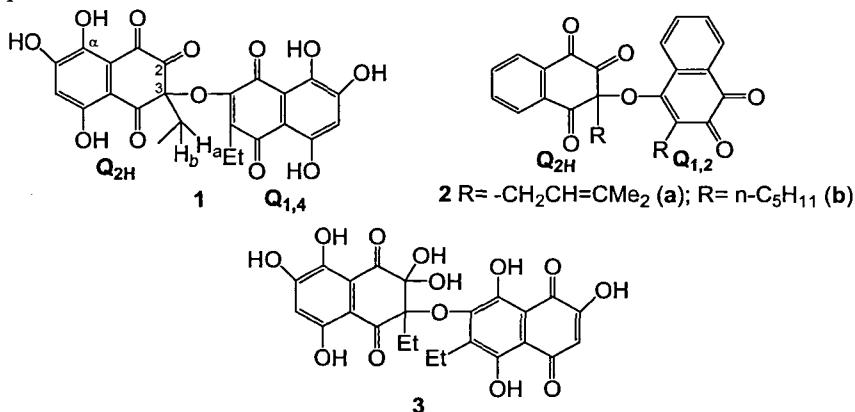
Ранее на примере эхинохрома было показано, что взаимодействие тригидроксиафтазаринов с водным аммиаком приводит к образованию производных 2-аминоафтазарина, в данном случае эхинаминам А и В, - биоактивным метаболитам, недавно выделенным из морского ежа *Scaphechinus mirabilis*. В связи с этим, представлялось интересным и практически важным изучить реакции спиназаринов с водным раствором аммиака, в том числе влияние природы заместителей в положении 6 и 7 на направление её протекания. Неожиданным в этом исследовании явилось наблюдение, что б(7)-(ди)алкил- и б(7)-(ди)алкоксипроизводные спиназарина в условиях реакции аминирования превращаются в производные 5,8-дигидроксиизохинолино-1,3,4(2*H*)-триона.

В ходе выполнения исследований был предложен препаративный синтез спинохрома Е, который является одним из компонентов природного комплекса, обладающего высокой антиоксидантной активностью. Он и полупродукты его синтеза были также исследованы в условиях реакции аминирования.

Определенный интерес представляют также исследования по синтезу представителей неизвестного ранее типа водорастворимых нафтохинон-углеводных конъюгатов негликозидной природы, в которых нафтазариновый и моносахаридный фрагменты связаны между собой простой эфирной связью с участием первичной гидроксигруппы углевода.

2.1. Ревизия структуры исландохинона, метаболита лишайника *Cetraria islandica*

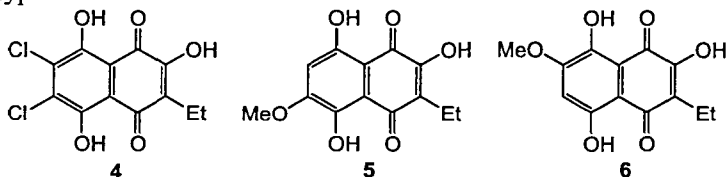
Относительно недавно появилось сообщение о выделении из лишайника *C. islandica* гидроксильированного бихинона, названного исландохиноном. Для этого соединения была предложена структура 3-этил-3-(1,4-дигидро-5,7,8-тригидрокси-1,4-диоксо-3-этилнафтален-2-илокси)-5,7,8-тригидрокси-1,2,4(3*H*)-триона (1). Определенное влияние на это исследование оказала опубликованная ранее работа по установлению структуры пероксида лапахола (2а) и его амильного производного 2б.



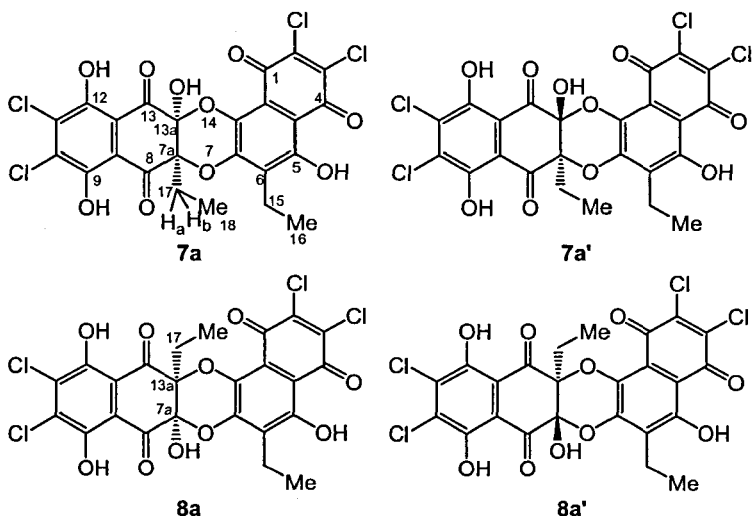
В то же время опубликованные спектральные данные не во всем согласовывались с предложенной структурой 1. В связи с этим, 2,3-дигидро-2-оксо-1,4-нафтохиноидная структура (Q_{2H}) фрагмента бихинона 1 была подвергнута ревизии. Отправным пунктом в этой работе явилась серия работ, посвященных синтезу и изучению спектральных свойств 2,3-дигидро-2-оксо-1,4-нафтохинонов и продуктов их гидратации. В результате, для исландохинона вместо структуры 1 была предложена структура 3-этил-3-(1,4-дигидро-5,7,8-тригидрокси-1,4-диоксо-3-этилнафтален-2-илокси)-2,3-дигидро-2,2,5,7,8-пентагидрокси-1,4-диона (3), то есть для субгруппы Q_{2H} была предложена структура 2,3-дигидро-2,2-дигидрокси-1,4-нафтохинона.

Структура 3 не полностью отвечает полученным для нее спектральным данным. В частности, в ЯМР ¹H спектре, полученном в CDCl₃, имеются

лишь три из четырех сигналов протонов α -гидроксигрупп, в тоже время в спектрах, снятых в ацетоне- d_6 , наблюдаются четыре сигнала. Кроме того, все соединения, содержащие нафтазариновый хромофор (Q_{1,4}), имеют цвет от красного до темно-бордового, в то время как исландохинон оранжевый. Для ответа на эти вопросы, нами были синтезированы продукты окислительного сочетания гидроксинафтазаринов 4, 5 и 6, и изучены их структуры.



Окислительная димеризация гидроксинафтазарина 4 под действием диоксида свинца в уксусной кислоте дала после хроматографической очистки продукт, который согласно спектральным данным является несимметричным бихиноном. Спектр ^1H ЯМР этого соединения, снятого в CDCl_3 , содержит три слабopольных сигнала (δ 11.43, 11.75 и 12.73 м.д.), принадлежащих α -гидроксигруппам, вовлеченным в ВМВС. В области, в которой проявляются сигналы протонов *гем*-диольных групп имеется уширенный сигнал гидроксигруппы (δ 5.24 м.д., 1H). В ЯМР ^1H спектре, полученном в ацетоне- d_6 , положение этого сигнала смещается в более слабое поле (δ 7.79 м.д.). Протоны метиленовой группы одного из этильных радикалов полученного продукта магнитно-неэквивалентны (δ 1.79 и 2.37 м.д.), что указывает на наличие при ней асимметрического центра. Спектр ЯМР ^{13}C этого продукта содержит двадцать четыре сигнала атомов углерода, четыре из которых наблюдаются в области слабого (δ 172.9, 180.0, 190.8 и 195.4 м.д., C=O) и четыре в области сильного поля (δ 6.8, 12.3, 16.8 и 27.5 м.д., Et-радикалы). Примечательным в этом спектре является сигнал при δ 92.3 м.д., указывающий на присутствие в структуре продукта атома углерода, связанного с двумя атомами кислорода. ИК-спектр полученного продукта содержит полосы при 1629 cm^{-1} и 1672 cm^{-1} . Первая из них является хиноидной, а вторая, вероятно, результатом перекрывания полос поглощения хиноидной и двух дигидрохиноидных групп C=O, связанных ВМВС с соответствующими α -гидроксигруппами. Масс-спектр полученного соединения содержит малоинтенсивный сигнал молекулярного иона с m/z 602/604/606 (2%) $[\text{M}]^+$. Наиболее интенсивными являются пики с m/z 302/304/306, соответствующие молекулярному иону соединения 4. Основываясь на этих данных и данных представленных в Экспериментальной части, можно сделать вывод, что полученный продукт является одним из четырех диоксабензо[*a*]тетрацентетраонов, составляющих две пары диастереомеров 7а, 7а' и 8а, 8а', соответственно.



Анализ корреляций ^1H - ^{13}C в двумерном эксперименте НМВС (Таблица 1) позволил сузить число возможных структур до двух - 7a и 7a'.

Таблица 1. Наблюдаемые корреляции ^1H - ^{13}C в 2D экспериментах НМВС, HSQC и химические сдвиги ^1H , ^{13}C продукта окислительного сочетания соединения 4

Атом Н	$\delta(^1\text{H})$ (м.д.)	$\delta(^{13}\text{C})$ (м.д.), HSQC	$\delta(^{13}\text{C})$ (м.д.), атом С, НМВС
5-ОН	12.73		180.0(C ⁴), 108.9(C ^{4a}), 153.4(C ⁵), 129.3(C ⁶), 147.2(C ^{6a})
9-ОН	11.76		108.0(C ^{8a}), 158.7(C ⁹), 136.9(C ¹⁰), 141.5(C ¹¹)
12-ОН	11.43		158.7(C ⁹), 136.9(C ¹⁰), 153.0(C ¹²), 109.9(C ^{12a})
13a-ОН	5.24		83.7(C ^{7a}), 190.8(C ¹³), 92.3(C ^{13a})
15-CH ₂	2.95	16.8	153.4(C ⁵), 129.3(C ⁶), 147.2(C ^{6a}), 12.3(C ¹⁶)
16-CH ₃	1.35	12.3	129.3(C ⁶), 16.8(C ¹⁵)
17a	1.79		147.2(C ^{6a}), 195.4(C ⁸), 92.3(C ^{13a}), 6.8(C ¹⁸)
17b	2.37	27.5	83.7(C ^{7a}), 195.4(C ⁸), 92.3(C ^{13a}), 6.8(C ¹⁸)
18-CH ₃	1.05	6.8	83.7(C ^{7a}), 27.5(C ¹⁷)

Окончательное установление структуры в пользу **7a** было сделано методом РСА. Квантово-химические расчеты хорошо согласуются со структурой **7a** (Рис. 1).

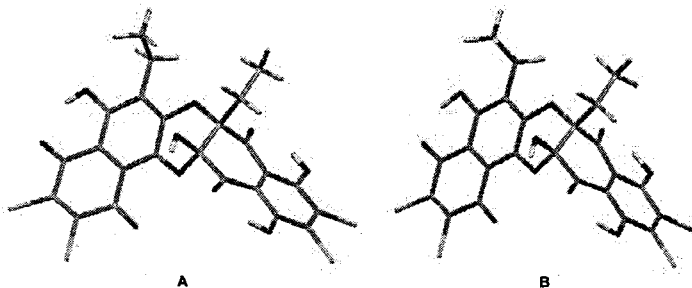


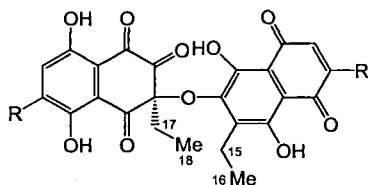
Рис. 1. Пространственная структура бихинона **7a**, определенная методом РСА (А), и согласно квантово-химическими расчетам B3LYP/6-311G(d) (В).

По данным спектра ЯМР ^1H , полученного в CDCl_3 , окислительная димеризация гидроксинафтазарина **5** дает смесь двух бихинонов в соотношении $\sim 3.4 : 1.0$. Главный из них, на основании сравнения его спектральных данных с соответствующими данными продукта **7a**, является диоксабензо[*a*]тетрацентетраоном **7b**. Характеристичными в спектрах этих соединений явились сигналы протонов этильных радикалов (Таблица 2).

Таблица 2. ^1H ЯМР спектры соединений **7a-e**, **8b,c** и **9a,b** в CDCl_3 (область сильного поля)

Соединение	CH_2 (15)	CH_3 (16)	H_a (17)	H_b (17)	CH_3 (18)
7a	2.95	1.35	1.79	2.37	1.05
7b	2.91	1.35	1.79	2.31	1.02
7c	2.92	1.37	1.75	2.36	1.04
7d	2.91	1.37	1.75	2.38	1.02
7e	2.93	1.35	1.78	2.33	1.03
8b	2.55	0.97	1.69	2.34	1.17
8c	2.58	0.99	1.73	2.37	1.17
9a	2.84	1.27		2.15	1.08
9b	2.83	1.28		2.16	1.08

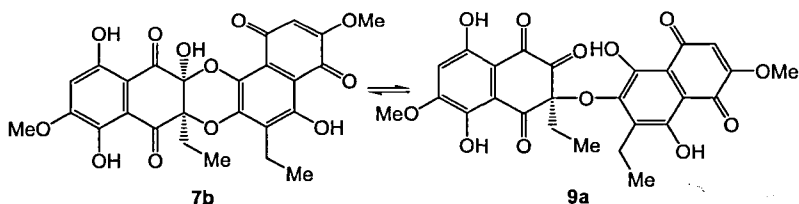
Структура второго продукта, в пользу **9a**, устанавливается сравнением спектральных данных его и продукта **9b**, описанного в литературе. Как и для структур **7a,b**, характеристичными в спектрах этих соединений являются сигналы протонов этильных радикалов (Таблица 2).



9 R=OMe (a); H (b)

В общем случае, в растворах продукты **7b** и **9a** находятся в состоянии кольчато-цепного таутомерного равновесия (Схема 1). На состояние этого равновесия оказывает влияние полярность растворителя и, например, в ацетоне, согласно данным ЯМР ^1H , оно полностью смещено в сторону кольчатой формы **7b**.

Схема 1



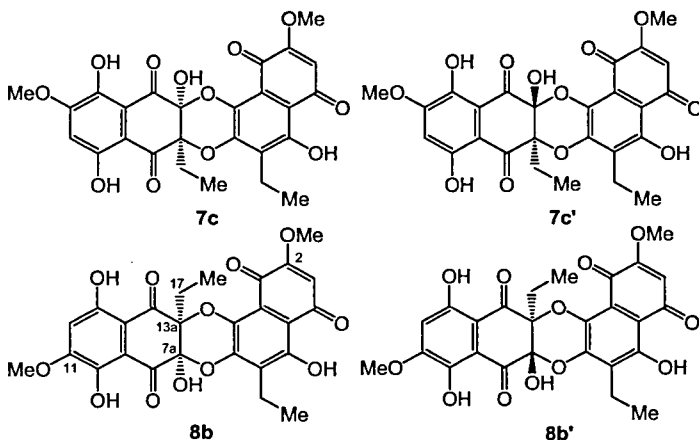
Окислительная димеризация кристазарина (**6**), согласно данным ЯМР ^1H спектроскопии, полученным в CDCl_3 , привела к образованию смеси двух диоксабензо[а]тетрацентетраонов в соотношении 1:1.8, причем, спектры их аналогичны. В частности, в спектре смеси, как и в спектре бихинона **7a**, наблюдаются лишь три сигнала протонов α -гидрокси групп для каждого соединения. В области спектра, в которой проявляются сигналы протонов полуацетальных гидроксигрупп (δ 5.24 м.д., для **7a**), также имеются уширенные сигналы (δ 5.45 и 5.20 м.д.). Их интенсивность для каждого соединения соответствует 1H. В ЯМР ^1H спектре смеси, снятом в ацетоне- d_6 , эти сигналы смещаются в более слабое поле (δ 7.79 и 7.89 м.д.), вследствие участия гидроксигрупп в ММВС с карбонильными группами растворителя.

В карбонильной области ИК-спектра изучаемых соединений наблюдаются три полосы поглощения. Две из них (1632 и 1645 cm^{-1}) принадлежат карбонильным группам, участвующим в ММВС, в то время как одна (1673 cm^{-1}) указывает на присутствие несвязанной группы $\text{C}=\text{O}$.

Сравнение ХС сильнополюсных сигналов протонов продуктов **7a,b** и ХС соответствующих сигналов протонов продуктов изучаемой смеси позволило минорному компоненту приписать строение **7c** (Таблица 2).

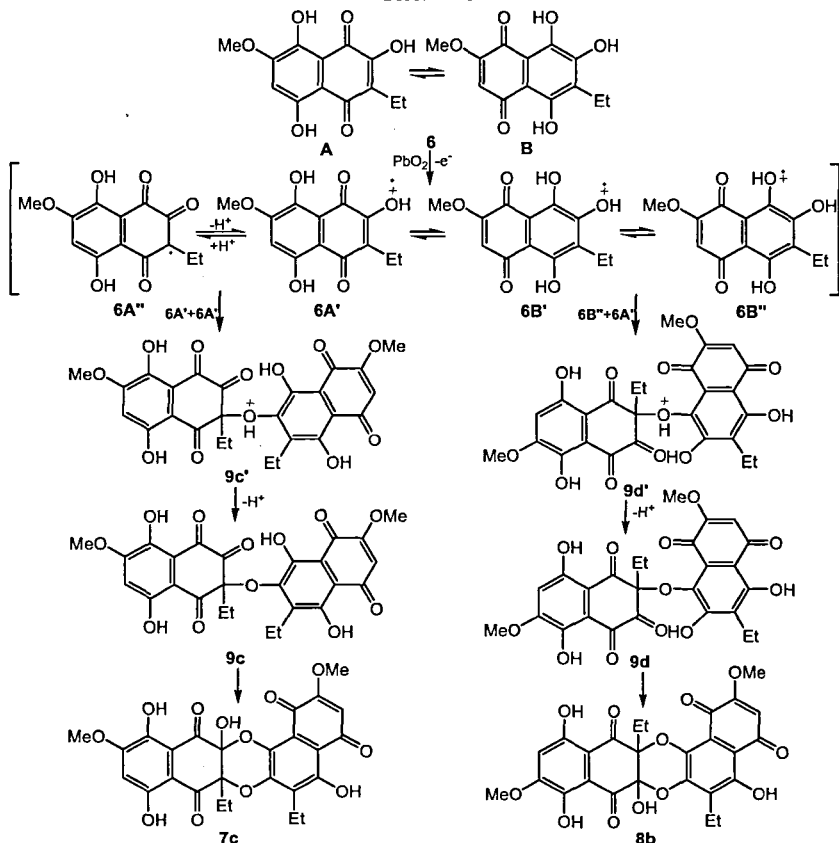
Основываясь на результатах квантово-химических расчетов, выполненных методом B3LYP/6-31G(d), можно заключить, что второй полученный продукт имеет структуру **8b**. В самом деле, согласно расчетам, $7aS^*$, $13aS^*$ -диастереомеры **7c** и **8b** более предпочтительны, чем соответствующие $7aR^*$, $13aS^*$ -диастереомеры **7c'** и **8b'** ($\Delta G_{7c'-7c} = 7.1$ ккал/моль и $\Delta G_{8c'-8c} = 7.9$ ккал/моль). С другой стороны, разность энергий Гиббса соединений **7c** и **8b** составляет лишь 0.39 ккал/моль.

В спектре ЯМР 1H соединения **8b** ХС сигналов протонов этильных радикалов (при C-15, C-16 и C-18) не совпадают с соответствующими ХС сигналами протонов соединений **7a-c** (Таблица 2). Это укрепляет предположение о характеристичности и, следовательно, важности этих сигналов для установления структур обсуждаемых продуктов.



По-видимому, процесс окислительной димеризации кристазарина, как и других рассмотренных гидроксинафтазаринов, протекает по механизму, включающему одноэлектронный перенос электрона от субстрата **6** к окислителю (Схема 2). Субстрат **6** существует в виде двух 1,4-нафтохиноидных таутомерных форм, поэтому перенос электрона может осуществляться как от таутомера **6A**, так и от таутомера **6B** с образованием, соответственно, катион-радикалов **6A'** и **6B'**. Катион-радикал **6A'** перегруппировывается в С-центрированный радикал **6A''** с выбросом протона, а относительная стабильность **6B'** достигается за счет резонанса ($6B' \leftrightarrow 6B''$). Рекомбинация радикала **6A''** с катион-радикалом субстрата **6A'** дает 2,3-дигидро-2-оксипроизводное **9c** в виде промежуточного катиона (**9c'**), который после выброса протона и циклизации превращается в конечный продукт **7c**. В свою очередь, рекомбинация катион-радикала **6B''** с радикалом **6A''** через последующую аналогичную цепь превращений ($6B'' + 6A'' \rightarrow 9d' \rightarrow 9d$) приводит к диоксабензо[а]тетрацентетрауну **8b**.

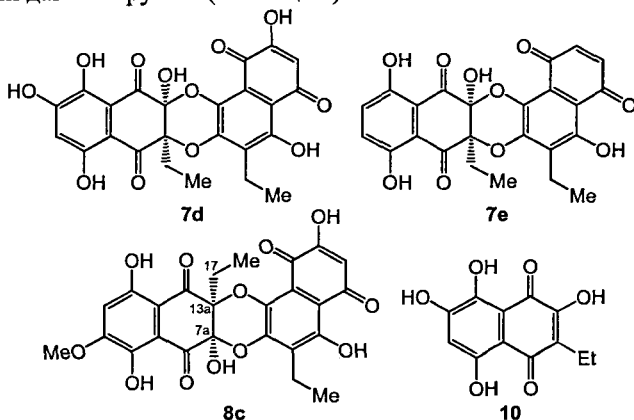
Схема 2



Химические сдвиги сигналов протонов этильных радикалов соединений **7a-c** (при C-15, C-16 и C-18) находятся в очень хорошем согласии с соответствующими ХС сигналов протонов в спектре исландохинона. Из этого следует, что предложенная ранее для исландохинона структура маловероятна и должна быть пересмотрена в пользу (7aS*,13aS*)-2,5,9,11,12,13а-гексагидрокси-7,14-диокса-6,7а-диэтилбензо[*a*]тетрацен-1,4,8,13(7aH,13aH)-тетраона (**7d**, Таблица 2). Поскольку структура исландохинона ревизована, структура его дидезоксианалога также должна быть пересмотрена, соответственно, в пользу (7aS*,13aS*)-5,9,12,13а-тетрагидрокси-7,14-диокса-6,7а-диэтилбензо[*a*]тетрацен-1,4,8,13(7aH,13aH)-тетраона (**7e**).

Попытка гидролиза диметилового эфира **7c** под действием безв. $AlCl_3$ в $PhNO_2$ привела к сложной смеси продуктов, в которой исландохинон надежно идентифицирован не был. В то же время, деметилирование

субстрата **8b** под действием того же реагента привело к монометиловому эфиру **8c** с низким выходом. О положении метоксигруппы в структуре продукта **8c** можно говорить с достаточной долей уверенности. Хиноидная метоксигруппа (при С-2) исходного субстрата **8b** является, по сути, винилоговой сложноэфирной и, поэтому более лабильной в условиях гидролиза, чем ароматическая (при С-11). В ^1H ЯМР спектре продукта **8c** значения ХС сигналов протонов при С-6 и С-13а практически совпадают с соответствующими значениями ХС сигналов протонов исходного субстрата **8b**, что еще раз подтверждает их значение для анализа структур соединений данной группы (Таблица 2).



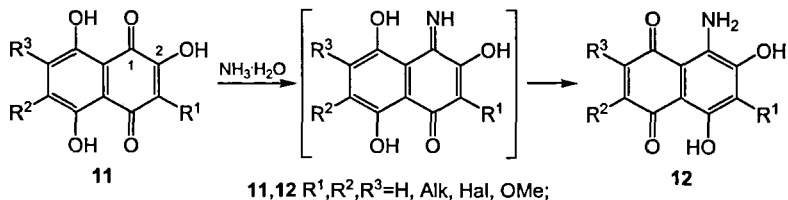
Кроме исландохинона (**7d**), из лишайника *C. islandica* был выделен его мономер, этилмомпаин (**10**). Попытки конвертировать этилмомпаин в исландохинон под действием кислорода воздуха, в том числе под действием УФ-облучения, не привели к желаемому результату. Это укрепляет предположение о том, что исландохинон является не артефактом, а продуктом биосинтеза.

2.2. Конверсия 2,3-дигидроксиафтазаринов в производные изохинолино-1,3,4(2H)-триона

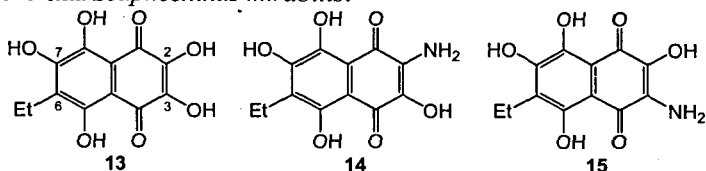
Среди гидроксиафтазаринов производные, содержащие две и более β -гидроксигрупп, до недавнего времени оставались труднодоступными, поэтому их химические свойства изучены слабо. К этой группе соединений относятся и спиназарины (2,3-дигидроксиафтазарины), большая часть из которых выделена из морских ежей.

Ранее было установлено, что взаимодействие гидроксиафтазаринов типа **11** с водным раствором аммиака протекает региоспецифично по карбонильной группе при С-1 с образованием производных 8-аминоюглона **12** (Схема 3).

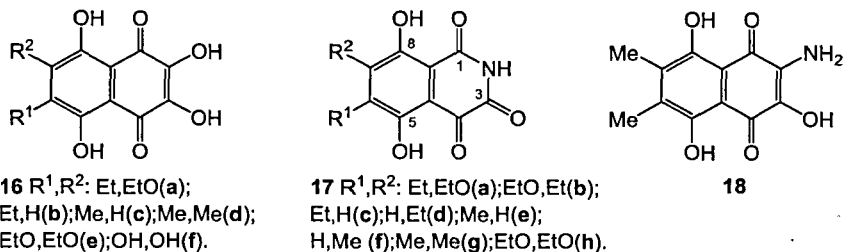
Схема 3



В то же время на примере эхинохрома (13) было показано, что взаимодействие тригидроксиафтазарина с тем же реагентом приводит к образованию производных 2-аминоафтазарина, в данном случае эхинаминам А (14) и В (15), - метаболитам, недавно выделенным из морского ежа *Scaphechinus mirabilis*.



Столь разное поведение моно- и дигидроксиафтазарина в условиях аминирования побудило нас к изучению влияния природы заместителей в положении 6 и 7 на направление реакции спиназарина с водным раствором аммиака. В результате проведенных исследований было установлено, что на направление реакции замещенных спиназарина с водным раствором аммиака ключевое влияние оказывает гидроксигруппа при С-6(7). Так, в отличие от эхинохрома (13), взаимодействие его алкоксипроизводного 16а с указанным реагентом при комнатной температуре неожиданно привело к смеси изомерных изохинолинотрионов 17а и 17б (≈1:2,8). Дезоксианалог эхинохрома 16б и метилспиназарин (16с) в тех же условиях дали, соответственно, смеси продуктов той же природы 17с, 17д и 17е, 17ф (≈1:1,5, ЯМР ¹Н).



В силу симметричности структур, из спиназарина 16d,e при взаимодействии с водным аммиаком были получены индивидуальные изохинолинотрионы 17g,h. С другой стороны, спинохром Е (16f), при

взаимодействии с водным раствором аммиака, дал сложную смесь продуктов ненафтазариновой природы. При анализе структуры соединений, входящих в состав смесей, **17a,b**, **17c,d** и **17e,f** ключевую роль сыграло установление структуры индивидуальных продуктов **17g** и **17h**.

Так, в ИК-спектрах соединений **17g,h** кроме полос поглощения в области 1601 - 1671 см^{-1} , принадлежащих участвующим в ВМВС карбонильным группам при С(1) и С(4), наблюдаются интенсивные полосы в области 1742 - 1744 см^{-1} , указывающие на наличие в этих соединениях несвязанных ВМВС групп С=О. Кроме того, в указанных спектрах отчетливо проявляются полосы поглощения валентных колебаний N-H (соответственно 3359 и 3358 см^{-1}). В спектрах ЯМР ^{13}C продуктов **17g,h** в области ароматических сигналов имеются лишь девять сигналов атомов углерода вместо десяти, наблюдаемых в общем случае в спектрах исходных субстратов **16a-e**. В дополнение к ним в спектрах ЯМР ^{15}N в области слабого поля наблюдаются сигналы имидного атома азота. В масс-спектрах соединений **17g** и **17h** пики молекулярного иона имеют нечетные значения, что подтверждает наличие атома азота в их структурах (см. Экспериментальную часть). Окончательный вывод о строении продуктов **17g,h** был сделан на основе результатов двумерного эксперимента НМВС (Таблица 3). Сравнение спектральных характеристик изохинолинотрионов **17g,h** со спектрами смесей продуктов **17a-f** позволило сделать однозначный вывод о строении последних.

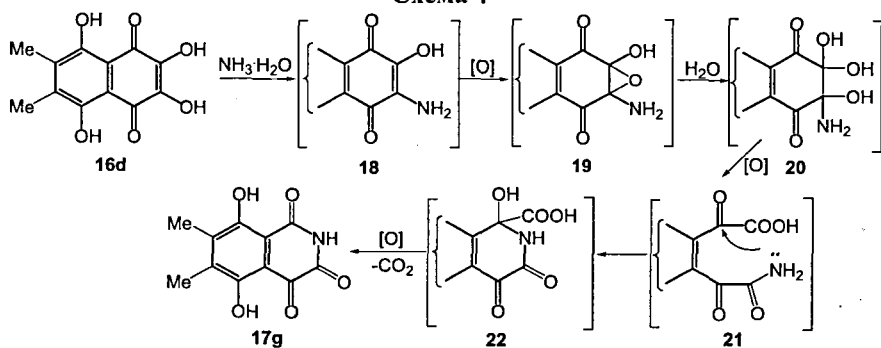
Таблица 3. Корреляции ^1H - ^{13}C в эксперименте НМВС и химические сдвиги ^1H изохинолинотрионов **17g,h** (700 МГц, ДМСО- d_6)

Соединение 17g			Соединение 17h		
Группа	$\delta(^1\text{H})$ (м.д.)	НМВС, С:	Группа	$\delta(^1\text{H})$ (м.д.)	НМВС, С:
$-\text{C}^6\text{CH}_3$	2.24	$\text{C}^5, \text{C}^6, \text{C}^7, \text{C}^9$	$-\text{C}^7\text{OCH}_2\text{CH}_3$	1.33	$-\text{C}^7\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}^7\text{OCH}_2\text{CH}_3$
$-\text{C}^7\text{CH}_3$	2.26	$\text{C}^6, \text{C}^7, \text{C}^8, \text{C}^{10}$	$-\text{C}^6\text{OCH}_2\text{CH}_3$	1.33	$-\text{C}^6\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}^6\text{OCH}_2\text{CH}_3$
$-\text{C}^5\text{OH}$	11.92	$\text{C}^{4a}, \text{C}^5, \text{C}^6, \text{C}^4$, C^7	$-\text{C}^7\text{OCH}_2\text{CH}_3$	4.21	$-\text{C}^7\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}^7\text{OCH}_2\text{CH}_3, \text{C}^7$
$-\text{C}^8\text{OH}$	12.12	$\text{C}^7, \text{C}^8, \text{C}^{8a}, \text{C}^6$, C^1	$-\text{C}^6\text{OCH}_2\text{CH}_3$	4.29	$-\text{C}^6\text{OCH}_2\text{CH}_3$, $-\text{C}^6\text{OCH}_2\text{CH}_3, \text{C}^6$
$-\text{NH}$	12.26	$\text{C}^{8a}, \text{C}^1, \text{C}^3, \text{C}^4$	$-\text{C}^5\text{OH}$	11.67	$\text{C}^{4a}, \text{C}^5, \text{C}^6$
			$-\text{C}^8\text{OH}$	12.03	$\text{C}^7, \text{C}^8, \text{C}^{8a}$
			$-\text{NH}$	12.26	

Наблюдаемая реакция протекает через раскрытие хиноидного цикла субстратов **16a-e**. Однако первым актом взаимодействия указанных 2,3-дигидроксиафтазаринов с аммиаком, по-видимому, как и в случае

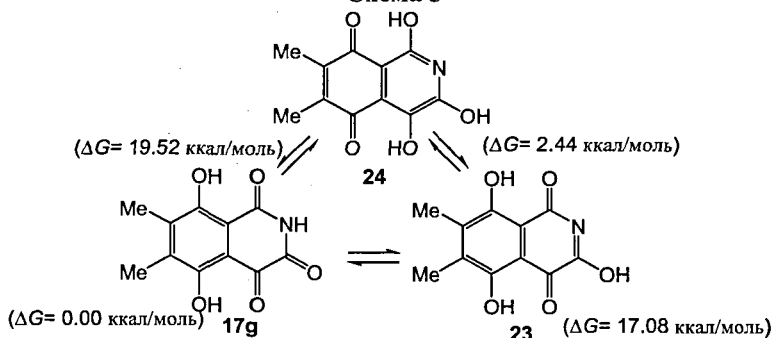
реакции с эхинохромом (13), является формальное замещение одной из гидроксигрупп аминогруппой. На это указывает то, что в условиях реакции полупродукт 18 легко превращается в производное изохинолинохинона 17g. Аминогидроксиафтазарин 18, подобно 2,3-дигидроксиафтазаринам, под действием кислорода воздуха окисляется, в данном случае, до 2-амино-3-гидрокси-2,3-эпоксинафтазарина 19 (Схема 4). Дальнейшее превращение спиназаринов 16a-e в соответствующие производные изохинолинохинона 17a-h под действием водного раствора аммиака на примере субстрата 16d протекает через окислительное расщепление гликоля 20, образовавшегося при раскрытии эпоксидного цикла полупродукта 19, циклизацию моноамида фениленбис(оксоуксусной кислоты) 21 и окислительное декарбоксилирование α -гидроксиуксусной кислоты 22.

Схема 4

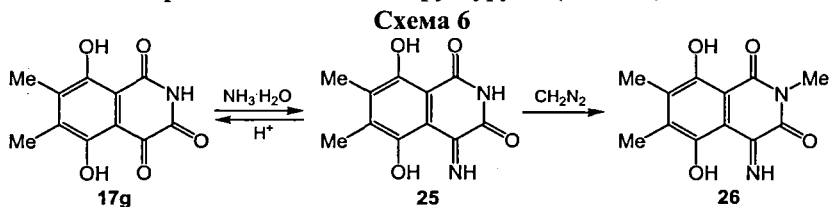


Квантово-химические расчеты показывают, что структура 5,8-дигидроксиизохинолино-1,3,4(2H)-триона 17g на 17.1 ккал/моль выгоднее структуры таумера 23, несущего пиридиндионовый фрагмент, и на 19.5 ккал/моль - таумера 24 с бензохиноновым фрагментом (Схема 5). Таким образом, keto-енольное равновесие $17g \rightleftharpoons 23 \rightleftharpoons 24$ практически целиком смещено в пользу изохинолино-1,3,4(2H)-триона 17g.

Схема 5



В реакционных смесях, которые образуются при обработке спиназаринов **16a-e** водным раствором аммиака, всегда обнаруживаются лабильные продукты, которые при подкислении растворов или попытке их очистки на силикагеле (H^+ -форма) легко превращаются в соответствующие изохинолино-1,3,4-трионы **17a-h**. Анализ реакционной смеси, полученной при взаимодействии спиназарина **16d** с водным аммиаком, показывает, что соответствующий лабильный продукт может образовываться непосредственно при взаимодействии изохинолинотриона **17g** с реагентом. В ЯМР 1H спектре этого продукта[†] кроме сигналов протонов гидроксигрупп при C-5,8 (δ 12.93 и 10.93 м.д.) и имидного протона (δ 8.44 м.д.) наблюдается уширенный сигнал протона иминогруппы (δ 7.21 м.д.), что позволяет предложить для него структуру **25** (Схема 6).



Доводом в пользу строения иминопроизводного **25** являются результаты изучения структуры продукта его метилирования под действием CH_2N_2 , который оказался более стабильным соединением. Особенностью ЯМР 1H спектра этого продукта является наличие протонов N-метильной (δ 3.45 м.д.) и иминогруппы (δ 7.09 м.д.). Отличительной особенностью ИК-спектра N-метильного производного является наличие полосы поглощения валентного колебания N-H при 3438 см^{-1} , указывающие на присутствие группы NH в его структуре. В масс-спектре продукта наблюдается пик молекулярного иона, подтверждающий брутто-формулу продукта **26**. Окончательный вывод о строении N-метильного производного **26** был сделан на основе результатов двумерного эксперимента НМВС (Таблица 4).

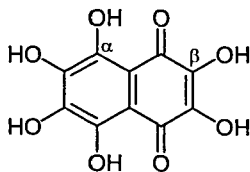
Таблица 4. Корреляции 1H - ^{13}C в эксперименте НМВС и химические сдвиги 1H соединения **26**

Группа	$\delta(^1H)$ (м.д.)	НМВС, C:
-C ⁶ CH ₃	2.21	C ⁵ , C ⁶ , C ⁷
-C ⁷ CH ₃	2.24	C ⁶ , C ⁷ , C ⁸
-NCH ₃	3.45	C ¹ , C ³
-NH	7.09	
-C ⁵ OH	10.90	
-C ⁸ OH	13.35	C ⁷ , C ⁸ , C ^{8a}

[†] В образце всегда присутствует **17g** вследствие обратной конверсии.

Необходимо отметить, что производные изохинолинохинона найдены в природных объектах и обладают широким спектром биологической активности.

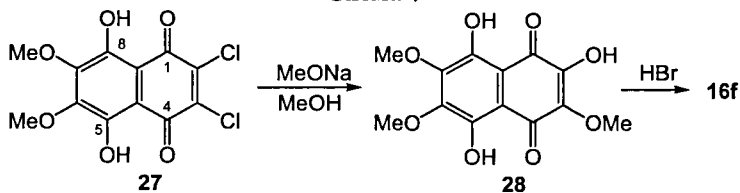
2.3. Синтез спинохрома Е – пигмента морских ежей рода *Echinothrix*



16f

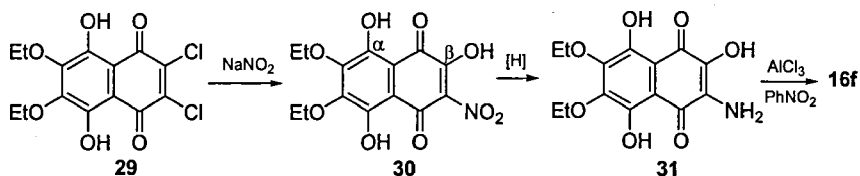
Ранее спинохром Е был синтезирован по схеме 7, ключевой стадией в которой явилась реакция нуклеофильного замещения атомов хлора на метоксигруппы в 2,3-дихлор-6,7-диметоксинафтазарине (27) под действием раствора MeONa в MeOH. Ионизация гидроксигрупп при С-5,8 субстрата 27 оказывает ингибирующее действие на протекание реакции нуклеофильного замещения, и для её осуществления понадобился огромный избыток реагента. Так, для замещения атомов хлора на метоксигруппы в 80 мг (0.25 ммоль) дихлорнафтазарина 27 потребовалось кипячение субстрата в 800 мл насыщенного раствора MeONa (3125 ммоль!) в MeOH в течение двух дней, и все попытки улучшить это соотношение не дали существенных результатов. Результатом этой реакции явился триметилловый эфир 28 (34%), который был гидролизован в спинохром Е (16f) под действием конц. HBr.

Схема 7



Вследствие чрезвычайно невыгодного соотношения субстрат – реагент на стадии конверсии 27→28 описанная методика мало подходит для получения необходимых для биологического тестирования количеств спинохрома Е. Более продуктивным к синтезу препаративных количеств спинохрома Е оказался подход описанный ранее для последовательной конверсии 2,3-дихлор-1,4-нафтохинонов в 2-гидрокси-3-нитро- и далее 3-амино-2-гидрокси-1,4-нафтохиноны, и позднее адаптированный для синтеза соответственно 2-гидрокси-3-нитро- и 3-амино-2-гидроксинафтазаринов (Схема 8).

Схема 8



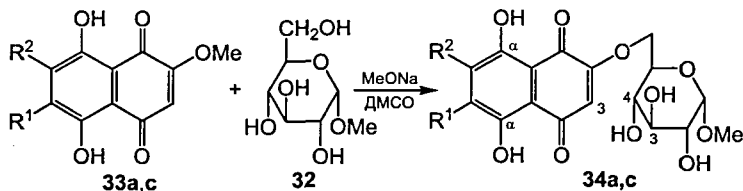
Согласно схеме 8, исходным субстратом в синтезе спинокрома Е (16f) явился дихлордиэтоксинафтазарин 29, который в водно-спиртовом растворе NaNO_2 легко превращается в гидроксинитропроизводное 30 с хорошим выходом. Восстановление полупродукта 30 под действием $\text{Na}_2\text{S}_2\text{O}_4$ дает аминогидроксинафтазарин 31. Однако попытки прямой конверсии аминоэтоксинафтазарина 31 в спинокром Е (16f) под действием конц. HBr или $\text{HBr}\cdot\text{HOAc}$ приводили к сложным смесям продуктов, в том числе ненафтазариновой природы. Наиболее подходящим реагентом для этой цели оказался раствор безв. AlCl_3 в нитробензоле. Полученный в результате гидролиза аминэтоксипроизводного 31 под действием этого реагента продукт 16f оказался во всех отношениях идентичным пигменту, выделенному ранее из морских ежей рода *Echinothrix*.

2.4. Синтез нафтохинон-углеводных конъюгатов негликозидной природы

При изучении реакции переэтерификации эфиров гидроксинафтазаринов в основной среде, было обнаружено, что в нее вступают лишь первичные спирты. Это побудило исследовать поведение в этой реакции, в качестве модели, метилглюкозида 32, производного глюкозы, содержащего первичный (при С-1) и вторичные (при С-2, С-3 и С-4) гидроксигруппы. Было установлено, что монометилловый эфир нафтопурпурина 33a при взаимодействии с метилглюкозидом 32 дает конъюгат 34a с выходом 66% (Схема 9).

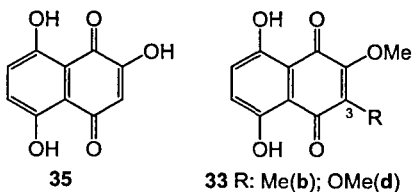
В спектре ^1H ЯМР полученного продукта наблюдаются сигналы протонов хиноидной, в том числе протонов α -гидроксигрупп (δ 12.19 и 12.62 м.д.) и протона при-С-3 (δ 6.25 м.д.), и углеводной части молекулы.

Схема 9



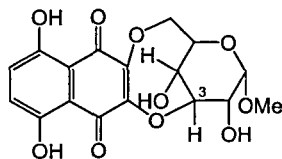
33,34 R^1, R^2 : H, H (a); Et, OMe (c)

В масс-спектре соединения **34a** пик молекулярного иона с m/z 382 $[M]^+$ имеет среднюю интенсивность (22%), а самым интенсивным сигналом, является пик с m/z 206 (100%) соответствующий молекулярному иону соединения (**35**). Третьим, по интенсивности, является пик углеводного фрагмента (без атома кислорода при С-6) с m/z 178 (15%). Наличие этих пиков в масс-спектре указывает на главное направление фрагментации соединения **34a** под действием электронного удара.



Алкильный заместитель при С-3 препятствует протеканию указанной реакции, поэтому метиловый эфир гидроксидозерона **33b** не реагировал с метилглюкозидом **32** в указанных условиях. В случае диметилового эфира момпаина **33c** реакция протекала по незатрудненной метоксигруппе при С-2, с образованием продукта **34c**. В то же время, диметилвый эфир спиназарина **34d** легко взаимодействовал с метилглюкозидом **32**, давая сложные смеси продуктов. Полученные продукты **34a,c** растворялись в воде (рН 7), давая стабильные окрашенные растворы.

Описываемая перезтерификация протекает в относительно узком интервале температур (65-70°C). При температуре около 100°C наблюдается образование трудноразделимой смеси двух продуктов ($\approx 1 : 2$, ^1H ЯМР). В спектре ЯМР ^1H прежде всего обращают на себя внимание очень близкие значения ХС сигналов протонов α -гидроксигрупп одного из соединений, входящих в состав смеси (δ 12.26, 12.27 м.д.). ХС сигналов протонов α -гидроксигрупп нафтазаринов чрезвычайно чувствительны к структурным изменениям происходящим в ядре и на периферии и, поэтому, такая близость их значений однозначно указывает на появление в положении 3 кислородсодержащего заместителя той же природы, что и при С-2. Сравнение ЯМР ^1H спектров метилглюкозида **32**, углеводной части конъюгата **34a** и соединений полученной смеси позволило заключить, что главным её компонентом является триоксабициклоундекан **36**. Он образуется в результате внутримолекулярного присоединения к хиноидному фрагменту образовавшегося продукта **34a** спиртовой группы при С-3 углеводного фрагмента. Этой реакции, несомненно, способствует сближенность двойной связи хиноидного фрагмента и гидроксигруппы углеводного остатка соединения **34**, поскольку известно, что в общем случае, в отличие от 1,4-нафтохинонов, их 5,8-дигидроксипроизводные (нафтазаринны) не присоединяют спирты и воду.



36

Для соединений **34a,c** была измерена цитотоксическая активность по отношению к опухолевым клеткам моноцитарной лейкемии человека линии THP-1 (MTS-метод). В этом эксперименте соединения **34a,c** показали умеренную цитотоксическую активность ($IC_{50} = 9.2$ и $26.3 \mu M$ соответственно).

Выводы

1. Установлено, что конечными продуктами окислительной димеризации замещенных 2-гидрокси-3-этилнафтазаринов под действием диоксида свинца являются гидроксипентациклические тетраэны, изомерные по взаимному расположению гидроксигруппы и этильного радикала при C-7a и C-13a.
2. Впервые синтезирован (7aS*,13aS*)-5,9,12,13a-тетрагидрокси-7,14-диокси-2,3,10,11-тетрахлоро-6,7a-диэтилбензо[a]тетрацен-1,4,8,13-(7aH,13aH)-тетраон, структура которого определена методом РСА. Сравнение спектральных характеристик полученного соединения и исландохинона, метаболита лишайника *Cetraria islandica*, позволило пересмотреть его структуру в пользу (7aS*,13aS*)-2,5,9,11,12,13a-гексагидрокси-7,14-диокси-6,7a-диэтилбензо[a]тетрацен-1,4,8,13-(7aH,13aH)-тетраона.
3. Впервые синтезирован (7aS*,13aS*)-5,9,12,13a-гексагидрокси-2,11-диметокси-7,14-диокси-6,7a-диэтилбензо[a]тетрацен-1,4,8,13-(7aH,13aH)-тетраон, диметильный эфир исландохинона.
4. Установлено, что 6(7)-(ди)алкильные и 6(7)-(ди)алкоксильные производные 2,3-дигидроксиафтазарина в условиях реакции аминирования превращаются в производные 5,8-дигидроксиизохинолино-1,3,4(2H)-триона. Выявлено влияние гидроксигруппы при C-6(7) спиназаринов на направление реакции.
5. Разработан препаративный синтез спинохрома E, метаболита морских ежей рода *Echinothrix*.
6. Впервые синтезированы представители неизвестного ранее типа водорастворимых нафтохинон-углеводных конъюгатов негликозидной природы 1-O-метил-6-O-(1,4-дигидро-5,8-дигидрокси-1,4-диоксонафта-лен-2-ил)-глюкопиранозид и 1-O-метил-6-O-(1,4-дигидро-5,8-дигидрокси-7-метокси-1,4-диокси-6-этилнафта-лен-2-ил)-глюкопиранозид, в которых нафтазариновый и моносахаридный фрагменты связаны между

собой простой эфирной связью с участием первичной гидроксигруппы углевода.

7. Показано, что полученные нафтохинон-углеводные конъюгаты негликозидной природы проявляют умеренную цитотоксическую активность по отношению к опухолевым клеткам моноцитарной лейкемии человека линии ТНР-1.

Список работ, опубликованных по теме диссертации

1. **Борисова К. Л.**, Мельман Г. И., Денисенко В. А., Глазунов В. П., Ануфриев В. Ф. Конверсия 2,3-дигидросинафтазаринов в производные изохинолин-1,3,4(2H)-триона // Изв. АН. Сер. хим. 2012. № 3. С. 613-619.
2. **Борисова К. Л.**, Ануфриев В. Ф. Простой препаративный синтез спинокрома E – пигмента морских ежей рода *Echinothrix* // Химия природ. соедин. 2012. № 2. С. 187-189.
3. **Борисова К. Л.**, Мельман Г. И., Ануфриев В. Ф. Конверсия 2,3-дигидросинафтазаринов в производные изохинолинохинона // Тезисы докладов XIV Молодежной конференции по органической химии. Екатеринбург. 10-14 мая 2011 г. С. 316-317.
4. **Борисова К. Л.**, Пелагеев Д. Н., Ануфриев В. Ф. Ревизия структуры исландохинона // Сборник тезисов Всероссийской молодежной научной конференции «Актуальные проблемы органической химии». Новосибирск. 9-14 июля 2012 г. С. 14.
5. Пелагеев Д. Н., **Борисова К. Л.**, Драган С. В., Похило Н. Д. Нафтохинон-углеводные конъюгаты негликозидной природы - новый тип водорастворимых производных нафтохинона // Сборник тезисов Всероссийской молодежной научной конференции «Актуальные проблемы органической химии». Новосибирск. 9-14 июля 2012 г. С. 28.

Борисова Ксения Леонидовна

Гидроксिलированные нафтазарины в синтезе природных хиноидных соединений и их аналогов

Автореферат

Подписано в печать _____

Формат 60x84/16 Тираж 100 экз.

Усл. печ. л. 1.0 Заказ № _____

Отпечатано в типографии « _____ »

690 _____, г. Владивосток, _____, тел.: _____