

## НАУКИ О ЗЕМЛЕ И СМЕЖНЫЕ ЭКОЛОГИЧЕСКИЕ НАУКИ

УДК 592

**К. А. Дроздов, Ю. Е. Сабуцкий, Т. С. Вшивкова**

### РАЗЛИЧИЯ В ПРИРОДНЫХ И СИНТЕЗИРОВАННЫХ НАФТОХИНОНАХ НА ПРИМЕРЕ JUGLON (5-ГИДРОКСИ-1,4-НАФТОХИНОНА)

Существует мнение, что биологическая активность химических соединений, выделенных из природного сырья и синтезированных аналогов природных соединений, может различаться. Это предположение слабо подкреплено серьезными научными исследованиями. В нашей работе мы сравнили растворы синтетического юглона в хлороформе (5-гидрокси-1,4-нафтохинона) и хлороформенный экстракт околоплодника маньчжурского ореха (*Juglans mandshurica* Maxim. (1856)) с помощью метода ядерного магнитного резонанса (ЯМР) для выявления возможных различий. Результаты показали, что в синтезированном Juglone и экстракте околоплодника маньчжурского ореха присутствуют разные формы 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone.

*Ключевые слова:* нафтохиноны, синтез, синтетические природные соединения, околоплодник маньчжурского ореха.

DOI: 10.24412/2227-1384-2021-445-60-68

#### **Введение**

Истории органического синтеза уже почти 200 лет, однако споры о том, что натуральные молекулы имеют принципиальные отличия от синтетических молекул, не утихают. Нафтохиноны являются важными вторичными метаболитами, необходимыми для протекания многих биологических процессов. Нафтохиноны встречаются как в растениях и лишайниках, так и в организмах животных. Существует большое количество медицинских препаратов, обладающих противоопухолевой [5], противопарази-

---

**Дроздов Константин Анатольевич** — кандидат биологических наук, научный сотрудник (Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия);  
e-mail: drovsh@yandex.ru.

**Сабуцкий Юрий Евгеньевич** — кандидат химических наук, научный сотрудник (Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, Владивосток, Россия);  
e-mail: drovsh@yandex.ru.

**Вшивкова Татьяна Сергеевна** — доктор биологических наук, старший научный сотрудник, доцент (Федеральный научный центр биоразнообразия наземной биоты Восточной Азии ДВО РАН, Дальневосточный государственный университет, Владивосток, Россия);  
e-mail: vshivkova@biosoil.ru, vshivkova.tse@dvfu.ru.

© Дроздов К. А., Сабуцкий Ю. Е., Вшивкова Т. С., 2021

---

тарной, противовоспалительной, противогрибковой, антимикробной [8] и трипаноцидной активностью [1], действующим веществом в которых являются нафтохиноны. Существуют также медицинские препараты, в которых основным действующим веществом являются нафтохиноны, такие как гистохром, викасол, атовакуон (который также известен под торговым названием Merpon) [6]. Такой широкий спектр применения нафтохинонов вызывает большой интерес к этим веществам как при поиске их источников в природе, так и при создании синтетических аналогов.

Многие виды растений способны синтезировать нафтохиноны, тогда как обычно ни одно из хордовых животных (Тип Chordata) не способно на их синтез. В то же время нафтохиноны проявляют высокую физиологическую активность при воздействии на обмен веществ, по крайней мере, у млекопитающих (Тип Chordata, класс Mammalia).

Можно предположить, что хотя возможность синтеза нафтохинонов отсутствует у хордовых животных, но их клетки способны взаимодействовать с нафтохинонами. Скорее всего, это связано с тем, что возможность синтеза нафтохинонов была утрачена в ходе эволюции хордовых, но механизм взаимодействия с нафтохинонами в метаболических процессах не был полностью утрачен. Организмы млекопитающих начали восполнять недостаток необходимых веществ с пищей или в виде продукта симбиотических бактерий. Например, менахинон или витамин K<sub>2</sub>, столь необходимые для жизнедеятельности человеческого организма, синтезируются бактериями в кишечнике, но не собственными железами человека. Основными представителями животного мира, сохранившими способность вырабатывать нафтохиноны, являются представители типа иглокожих (Тип Echinodermata).

Имеются данные о том, что, помимо иглокожих, нафтохиноны обнаружены в тканях членистоногих: *Diploptera punctata* (Eschscholtz, 1822) (Тип Членистоногих, класс Insecta, отряд Blattodea, семейство Blaberidae). Из вида *Diploptera punctate* были выделены три нафтохинона: 2-этил-1,4-бензохинон; 2-метил-1,4-бензохинон; и пара-бензохинон (или 1,4-бензохинон). У представителей рода *Diploptera* есть интересная особенность — они кормят своё потомство, как и млекопитающие, секретом, похожим на молоко [7]. Получение нафтохинонов из растений намного дешевле, чем из морских гидробионтов. Что касается получения нафтохинонов из морских организмов, то это связано с рядом трудностей. Основная проблема — высокая стоимость из-за недостаточного количества натурального сырья. Например, плоский морской ёж *Scaphechinus mirabilis* A. Agassiz, 1864, из экстракта которого получают препарат гистохром [3], хотя часто встречается в местах его основной добычи (акватория Японского моря, Приморский край), но не в таких количествах, которые могут удовлетворить потребности промышленного производства нафтохинонов. Существуют также трудности и при аквакультурном воспроизводстве иглокожих.

Для многих иглокожих важными факторами, необходимыми для успешного разведения, являются определённый уровень солёности (поэтому морские фермы не должны располагаться вблизи устьев рек), глубина, освещённость, температура и многие другие, которые трудно обеспечить искусственным разведением. По этой причине практически невозможно удовлетворить потребности в нафтохинонах (по крайней мере, в фармацевтической промышленности) исключительно за счёт природных ресурсов или аквакультуры.

Разведение членистоногих, таких как *Diploptera punctata*, может иметь определённые перспективы для выделения из них различных форм нафтохинонов. Для этого необходимо провести целенаправленный поиск животных, вырабатывающих эти соединения, которые к тому же не представляют трудностей для их искусственного разведения.

Поэтому наиболее перспективным подходом к получению нафтохинонов в промышленных количествах является их искусственный синтез, также возможно улучшить качество природных нафтохинонов путём искусственного изменения их структуры. Так, в Тихоокеанском институте биоорганической химии Дальневосточного отделения Российской академии наук С. Г. Полоник и соавторы обнаружили, что цитотоксическая активность бромюглона выше, чем у тиогликозидов юглона [4]. Позже они также обнаружили, что ацетилированные гликозиды юглона проявляют иммуномодулирующие эффекты.

Химические вещества нафтохинонового ряда довольно легко синтезируются. Таким образом, юглон (5-гидрокси-1,4-нафтохинон), впервые выделенный из кожуры незрелых плодов грецкого ореха *Juglans regia*, синтезируется окислением производных оксида нафталина. Один из вариантов промышленного синтеза 5-гидрокси-1,4-нафтохинона предложен в книге «Юглон и родственные 1,4-нафтохиноны» Г. И. Жунгиету и Л. А. Влада [2]. Основным преимуществом этого метода является исключение стадии получения свободного промежуточного продукта 1,5-диоксинафталина. Продукт щёлочного плавления динатриевой соли 1,5-нафталинд-сульфоокислоты обрабатывают серной кислотой, а затем окисляют солью хрома в присутствии полученной глауберовой соли (рис. 1).

Существуют два полярных мнения относительно биологической активности молекул, выделенных из природного сырья и синтезированных аналогов. Некоторые исследователи считают, что синтетические молекулы полностью идентичны природным аналогам, другие предполагают, что невозможно синтезировать *in vitro* молекулу, созданную природой *in vivo* и что биологическая активность синтезированных молекул всегда отличается от тех, которые созданы в живой клетке. До сих пор эта дискуссия проходит скорее «за кулисами», без серьёзных научных исследований и доказательств, представленных научному сообществу.

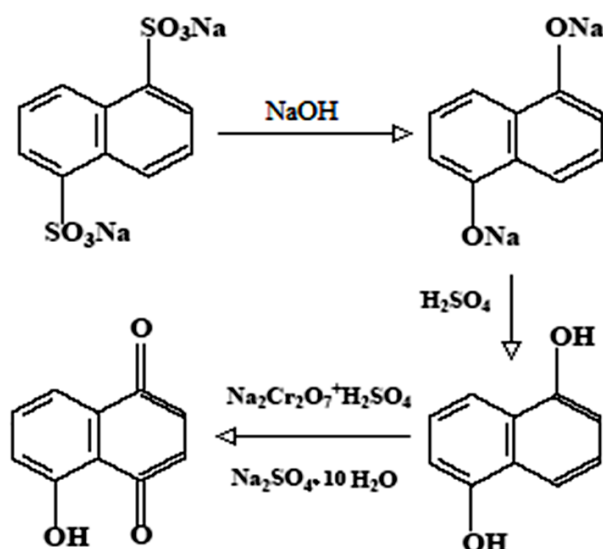


Рис. 1. Схема синтеза юглона

Результаты сравнения идентичности молекул с помощью таких методов, как хроматография и масс-спектрометрия, часто трудно интерпретировать, поскольку молекулы могут иметь одинаковую молекулярную массу, а также одинаковое время прохождения через хроматографическую колонку. Тем не менее, они могут иметь конформационные различия, поэтому для таких сравнений более подходит рентгенофлуоресцентный анализ или ЯМР-спектроскопия.

В нашей работе мы изучали синтетически полученный юглон и экстракцию хлороформом мезокарпия маньчжурского ореха (*Juglans mandshurica* Maxim. (1856).

#### Материал и методы

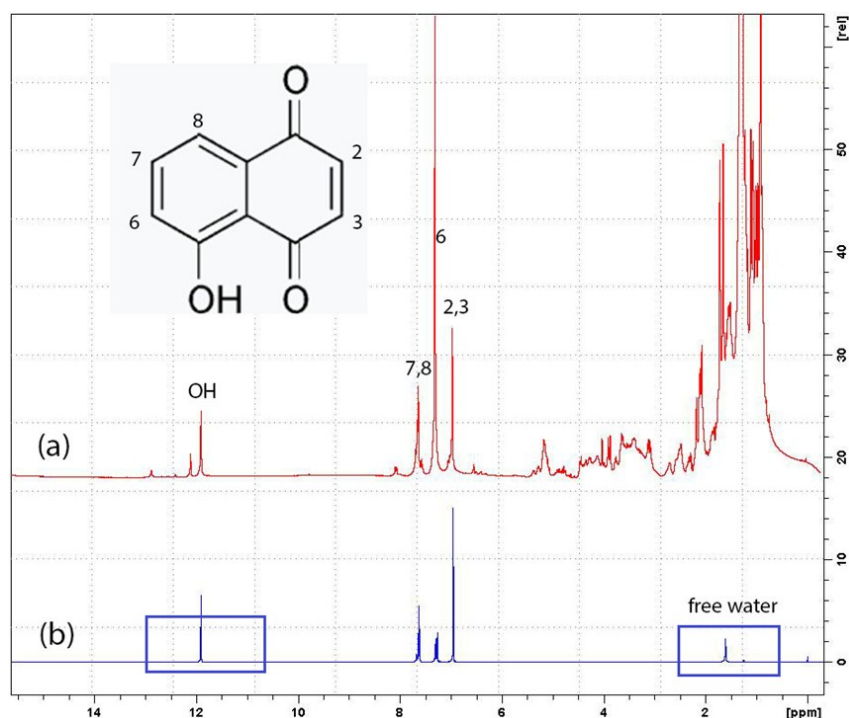
Синтетический юглон для автоматической регулировки однородности магнитного поля вдоль дейтериевого канала растворяли в 600 мкл дейтерированного хлороформа ( $\text{CDCl}_3$ ). Околоплодник маньчжурского ореха измельчали и экстрагировали хлороформом. Затем экстракт высушивали под тягой и растворяли в дейтерированном хлороформе. Позже в полученные смеси был добавлен тетраметилсилан ( $\text{SiC}_4\text{H}_{12}$ ), и они были исследованы с помощью ЯМР-спектрометра DRX-5 (Bruker) с резонансной частотой 300 МГц при температуре 36 °С.

Данные, полученные в ходе протонной 1-D спектроскопии, представлены в следующем виде: по оси ординат – интенсивность сигнала от протонов в различных химических связях и состояниях (это даёт информацию о пропорциональном содержании ядер в различных химических состояниях в исследуемом образце); по оси абсцисс – значения хи-

мического сдвига сигнала протона относительно эталонного нуля, сигнала от тетраметилсилана ( $\text{SiC}_4\text{H}_{12}$ ) (это даёт информацию о количестве различных химических соединений). Величина химического сдвига выражается в частях на миллион от базовой частоты или ppm (англ. parts per million).

### Результаты

Результаты анализа хлороформного экстракта околоплодника маньчжурского ореха (а) и юглона (б), полученного синтетическим путем и растворённого в дейтерированном хлороформе, представлены в спектрах, полученных на ЯМР-спектрометре 300 МГц (Bruker) (рис. 2).



**Рис. 2. ЯМР спектры околоплодника ореха маньчжурского и синтетического юглона:**  
 (а) <sup>1</sup>H-NMR спектр хлороформного экстракта *Juglans mandshurica*,  $\text{CDCl}_3$  (Bruker, 300 MHz);  
 (б) <sup>1</sup>H-NMR спектр синтезированного юглона (5-гидрокси-1,4-нафтохинона),  $\text{CDCl}_3$  (Bruker, 300 МГц)

На протонном спектре 300 МГц юглона имеет четыре пика. Сигналы от 7 и 8 СН группы, а также от 2 и 3 СН-групп при данном разрешении сливаются друг с другом в один пик. Сигнал от протона 6 сливается с сигналом протонированного хлороформа ( $\text{CHCl}_3$ ), которого значительно больше содержится в хлороформном экстракте околоплодника маньчжурского ореха из-за остаточного хлороформа после сушки.

В нашем эксперименте несколько сигналов появляются в спектре протонного ЯМР экстракта околоплодника маньчжурского ореха (рис. 2а), а также в спектре синтезированного юглона (рис. 2b). Если бы в анализируемом образце присутствовала только одна форма молекулы юглона, то в спектре протонного ЯМР можно было бы выделить только 1 пик при 11,89 промилле.

Однако, как на спектре экстракта околоплодника маньчжурского ореха (рис. 2а), так и на спектре синтетического Juglone (рис. 2b) мы наблюдаем несколько сигналов в этой области. Экстракт околоплодника маньчжурского ореха ожидаемо содержит большее количество веществ, кроме Juglon и его форм.

Ожидается, что экстракт околоплодника маньчжурского ореха содержит большее количество веществ, чем синтезированный юглол и его формы, тогда как синтезированный юглол в идеале должен содержать только одну форму. Однако при 15-кратном увеличении в спектральном диапазоне от 11,5 до 12,5 (рис. 3) видно, что присутствие других форм 5-гидрокси-1,4-нафтохинона регистрируется, но в небольших концентрациях. Содержание всех примесей не превышает 0,1 %, и определение их точной структуры является довольно сложной задачей. Однако можно предсказать наличие ожидаемых форм нафтохинонов в исследуемой смеси.

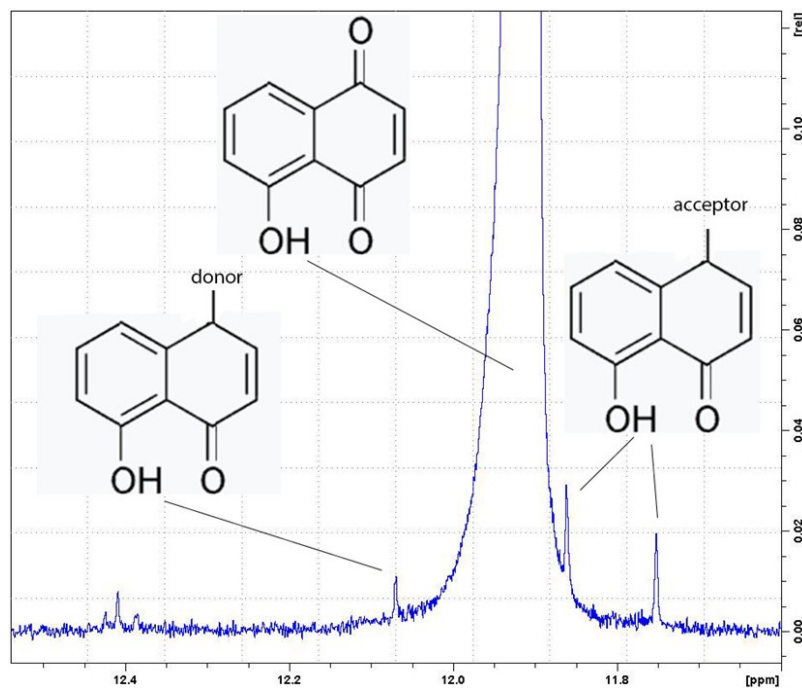


Рис. 3.  $^1\text{H}$ -NMR спектр синтезированного юглона (5-гидрокси-1,4-нафтохинона),  $\text{CDCl}_3$  (Bruker, 300 МГц)

В случае если кислород будет замещён акцептором, сигнал от гидроксильной группы сместится в слабое поле (влево), если донором — в сильное поле (вправо) (рис. 3). Формы акцепторов и доноров могут быть очень разными, и наличие той или иной формы зависит от типа синтеза молекулы. При 15-кратном увеличении спектра в диапазоне 1,5–3,75 промилле (рис. 4) видно, что исследуемая смесь содержит воду в двух формах: свободной и связанной (в солях). Наличие этих сигналов позволяет сделать вывод, что соли являются одной из основных примесей в образце синтетического юглона.

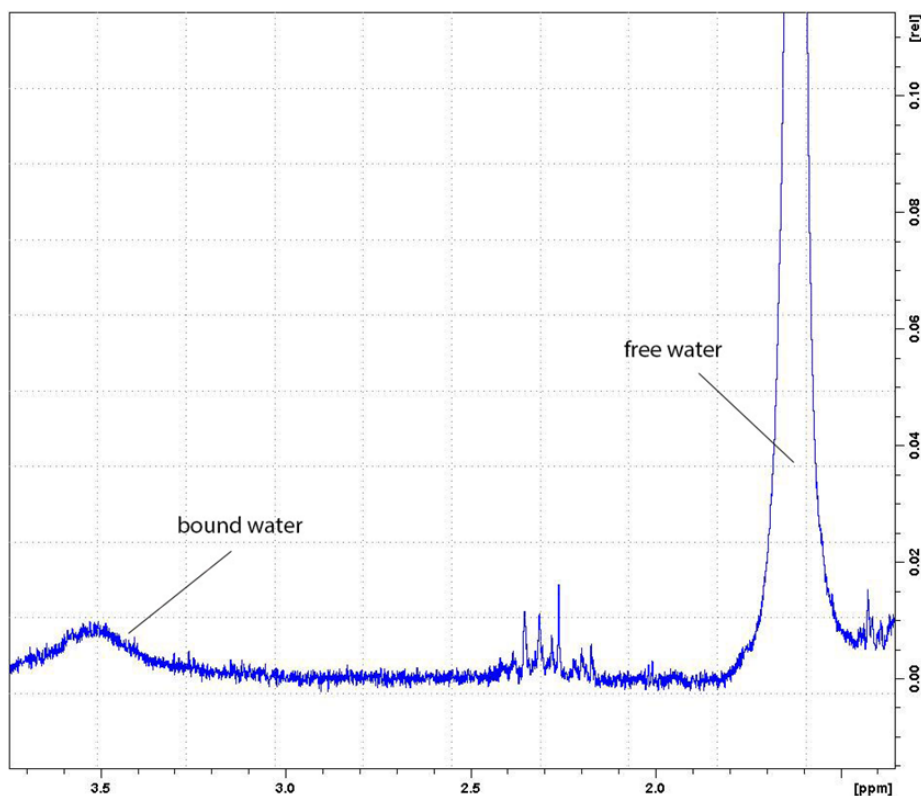


Рис. 4.  $^1\text{H}$ -NMR спектр синтезированного юглона (5-hydroxy-1,4-naphthoquinone),  $\text{CDCl}_3$  (Bruker, 300 МГц)

### Выводы

Как мы видим на примере изученных нафтохинонов, синтетический юглол и природный юглол полностью идентичны, что подтверждается совпадением сигналов ЯМР в спектрах. Однако были выявлены различия в содержании примесей, хотя их содержание незначительно и трудно сделать вывод об их влиянии на биологическую активность лекарства в целом. Нафтохиноны обладают очень высокой биологической

активностью, и даже очень малые концентрации различных форм нафтохинонов могут оказывать существенное влияние на жизнедеятельность живых организмов. Для того, чтобы сделать окончательный вывод о биологической активности той или иной формы синтетических нафтохинонов, необходимо изучить все сопутствующие формы нафтохинонов, содержащиеся вне основной молекулы. То же самое можно сказать и о любых других синтезированных природных биомолекулах.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Дайронас Ж. В., Зилфикаров И. Н. Природные нафтохиноны: перспективы медицинского применения. Щёлково: Мархотин П.Ю., 2011. 252 с.
2. Жунгуету Г. И., Влад Л. А. Juglon и родственные 1,4-нафтохиноны. Кишинёв: Штинца. 1978. 95 с.
3. Мищенко Н. П., Федорев С. А., Догадова Л. П. Препарат гистохром для офтальмологии // Вестник ДВО РАН. 2004. № 3. С. 111 – 119.
4. Полоник С. Г. Синтез и цитостатическая активность 2-бром-3-алкилглюконов и родственных тиоглюкозидов на их основе / Полоник С. Г., Толкач А. М., Шенцова Е. Б., Уварова Н. И. // Химико-фармацевтический журнал. 1995. Т. 29. № 10. С. 9 – 11.
5. Dyshlovoy S. A. Successful targeting of the Warburg effect in prostate cancer by glucose-conjugated 1,4-naphthoquinones / Dyshlovoy S. A., Pelageev D. N., Hauschild J. [et al.]. // *Cancers*. 2019. Vol. 11. Issue 11. No. 1690. 21 p. DOI: 10.3390/cancers11111690. URL: <https://doi.org/10.3390/cancers11111690>
6. Hughes W. Comparison of atovaquone (566C80) with trimethoprim-sulfamethoxazole to treat *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with AIDS / Hughes W., Leoung G., Kramer F. [et al.]. // *The New England Journal of Medicine*. 1993. Vol. 328. No. 21. Pp. 1521 – 1527. DOI: 10.1056/NEJM199305273282103.
7. Roth L. M., Stay B. The occurrence of para-quinones in some arthropods, with emphasison the quinone-secreting tracheal glands of *Diploptera punctate* (Blattaria). *Journal of Insect Physiology*. 1958. No. 1. P. 305 – 318.
8. Sabutski Y. E. Synthesis and Evaluation of Antimicrobial and Cytotoxic Activity of Oxathiine-Fused Quinone-Thioglucozide Conjugates of Substituted 1,4-Naphthoquinones / Sabutski Y. E., Menchinskaya E. S., Shevchenko L. S. [et al.]. // *Molecules*. 2020. Vol. 25. Issue 16. No. 3577. 19 p. DOI: 10.3390/molecules25163577. URL: <https://doi.org/10.3390/molecules25163577>

\* \* \*

**Drozdov Konstantin A.<sup>1</sup>, Sabutskiy Yuriy E.<sup>1</sup>, Vshivkova Tatyana S.<sup>2</sup>**  
**DIFFERENCES BETWEEN NATURAL AND SYNTHETIC COMPOUNDS**  
**ON THE EXAMPLE OF JUGLONE (5-HYDROXY-1,4-NAPHTHOQUINONE)**

<sup>1</sup> G.B. Elyakov Pacific Institute of Bioorganic Chemistry FEB RAS, Vladivostok, Russia;

<sup>2</sup> Federal Scientific Center of the East Asia Terrestrial Biodiversity FEB RAS, Far Eastern Federal University, Vladivostok, Russia)

There is an opinion that the biological activity of chemical compounds isolated from natural raw materials and synthesized analogues of natural compounds, may differ. This assumption is poorly supported by serious scientific research. In our work, we compared solutions of synthetic juglon in chloroform (5-hydroxy-1,4-naphthoquinone) and chloroform extract of Manchurian walnut pericarp (*Juglans mandshurica* Maxim. (1856) using the nuclear magnetic resonance (NMR) method to



identify possible differences. The results showed that the synthesized Juglone and the Manchurian nut pericarp extract contain different forms of 5-hydroxy-1,4-naphthoquinone.

**Keywords:** naphthoquinones, synthesis, synthetic natural compounds, Manchurian nut pericarp.

DOI: 10.24412/2227-1384-2021-445-60-68

#### REFERENCES

1. Dayronas Zh. V., Zilfikarov I. N. *Prirodnyye naftokhinony: perspektivy meditsinskogo primeneniya* (Natural naphthoquinones: prospects for medical use), Shchelkovo, Publisher Marhotin P.Yu., 2011. 252 p.
2. Jungietu G. I., Vlad L. A. *Juglon i rodstvennyye 1,4-naftokhinony* (Juglon and related 1,4-naphthoquinones), Kishinev, Shtintsa Publ., 1978. 95 p.
3. Mishchenko N. P., Fedoreev S. A., Guadova L. P. Histochemie preparation for ophthalmology [Preparat gistokhrom dlya oftal'mologii], *Vestnik DVO RAN* (Bulletin of the FEB RAS), 2004, no. 3, pp. 111 – 119.
4. Polonik S. G., Tolkach A. M., Shentsova E. B., Uvarova N. I. Synthesis and cytostatic activity of 2-bromo-3-alkyluglones and related thioglucosides based on them [Sintez i tsitostaticheskaya aktivnost' 2-brom-3-alkilyuglonov i rodstvennykh tioglyukozidov na ikh osnove], *Khimiko-farmatsevticheskiy zhurnal* (Chemico-pharmaceutical Journal), 1995, vol. 29, no. 10, pp. 9 – 11.
5. Dyshlovoy S. A., Pelageev D. N., Hauschild J., Borisova K. L., Kaune M., Krisp C., Venz S., Sabutski Y. E., Khmelevskaya E. A., Busenbender T. [et al.]. Successful targeting of the Warburg effect in prostate cancer by glucose-conjugated 1,4-naphthoquinones, *Cancers*, 2019, vol. 11, issue 11, no. 1690, 21 p., doi: 10.3390/cancers11111690. Available at: <https://doi.org/10.3390/cancers11111690>.
6. Hughes W., Leoung G., Kramer F., Bozzette S. A., Safrin Sh., Frame P., Clumeck N., Masur H., Lancaster D., Chan Ch., Lavelle J., Rosenstock J., [et al.]. Comparison of atovaquone (566C80) with trimethoprim-sulfamethoxazole to treat *Pneumocystis carinii* pneumonia in patients with AIDS, *The New England Journal of Medicine*, 1993, vol. 328, no. 21, pp. 1521 – 1527. DOI: 10.1056/NEJM199305273282103.
7. Roth L. M., Stay B. The occurrence of para-quinones in some arthropods, with emphasison the quinone-secreting tracheal glands of *Diploptera punctata* (Blattaria), *Journal of Insect Physiology*, 1958, no. 1, pp. 305 – 318.
8. Sabutski Y. E., Menchinskaya E. S., Shevchenko L. S., Chingizova E. A., Chingizov A. R., Popov R. S., Denisenko V. A., Mikhailov V. V., Aminin D. L., Polonik S. G. Synthesis and Evaluation of Antimicrobial and Cytotoxic Activity of Oxathiine-Fused Quinone-Thioglucoside Conjugates of Substituted 1,4-Naphthoquinones, *Molecules*, 2020, vol. 25, issue 16, no. 3577, 19 p., doi:10.3390/molecules25163577. Available at: <https://doi.org/10.3390/molecules25163577>.

\* \* \*