

Л. Н. Юдина, А. М. Королев, М. И. Резникова,
М. Н. Преображенская

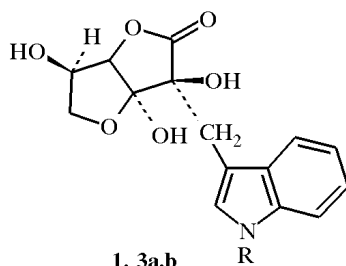
ИЗУЧЕНИЕ НЕОАСКОРБИГЕНА

Описан синтез N-метоксиаскорбигена (неоаскорбигена) — природного вещества из растений семейства крестоцветных, а также N-этоксиаскорбигена. Показано, что в кислой среде в жестких условиях N-алкоксиаскорбигены претерпевают превращения с выделением аскорбиновой кислоты и образованием олигомеров 1-алкокси-3-метилениндолина или с раскрытием лактонного кольца, декарбоксилированием, дегидратацией с образованием 2-гидрокси-3-(1-алкоксииндол-3-ил)-4-гидроксиметилциклопент-2-енона. Впервые получены амиды неоаскорбигена, 3-O-метилгликозид N-этоксиаскорбигена, продукт восстановления N-этоксиаскорбигена борогидридом натрия.

Ключевые слова: 2-гидрокси-3-(1-алкоксииндол-3-ил)-4-гидроксиметилциклопент-2-еноны, неоаскорбиген, N-этоксиаскорбиген.

Свойства аскорбигена — 2-C-[(индол-3-ил)метил]- α -L-ксило-3-гексулофуранозоно-1,4-лактона (**1**), образующегося в растениях семейства крестоцветных из 3-гидроксиметилиндола (продукта распада алкалоида глюкобрассицина) и L-аскорбиновой кислоты (**2**) [1—3], достаточно хорошо изучены. В кислой среде он освобождает аскорбиновую кислоту и образует продукты олигомеризации 3-метилениндолина [4], из которых наиболее важным является 5H,11H-индоло[3,2-*b*]карбазол — мощный активатор цитохромзависимой оксидазы P4301A1 и модулятор канцерогенеза [5, 6].

Помимо глюкобрассицина в растениях семейства крестоцветных содержится ряд других индольных алкалоидов (глюкозинолатов) [7, 8]. К ним относится неоглюкобрассицин (N-метоксиглюкобрассицин) — источник неоаскорбигена (N-метоксиаскорбигена **3a**). Химические и биохимические свойства последнего ранее не исследовались, и его биологическое значение не выявлено.

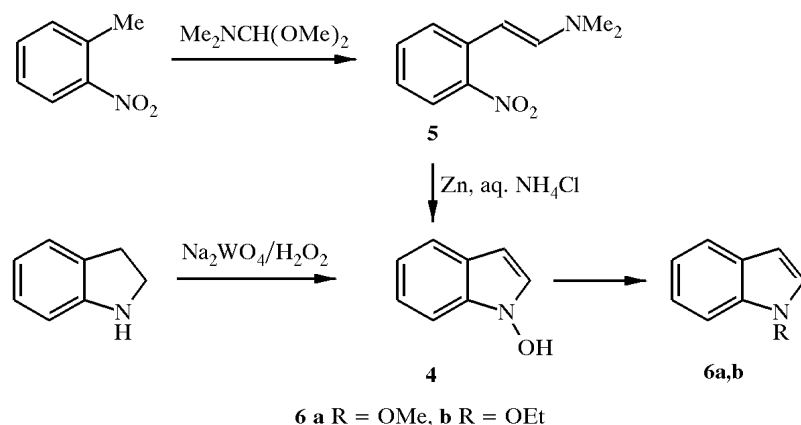


1, 3a, b

1 R = H; **3a** R = OMe; **3b** R = OEt

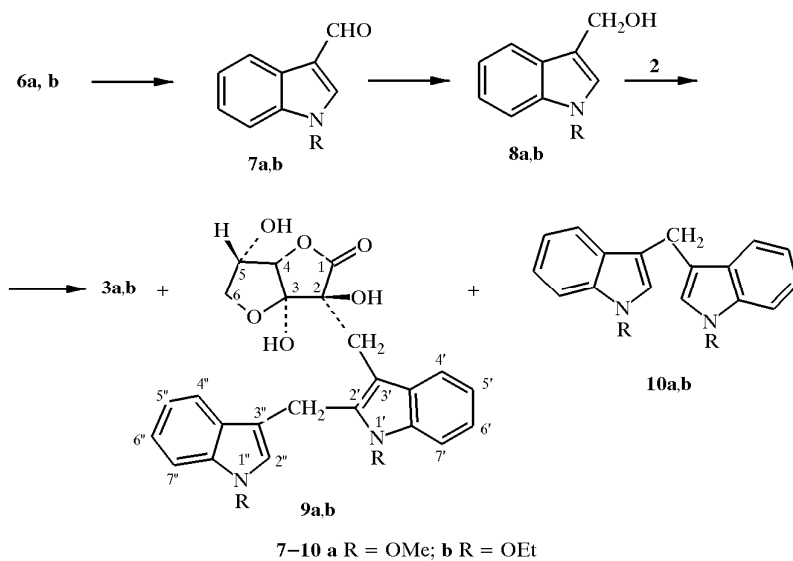
Задача настоящей работы заключалась в синтезе неоаскорбигена **3a**, его гомолога — N-этоксиаскорбигена **3b** и изучении химических свойств этих соединений. Ключевым соединением в синтезе алкоксиаскорбигенов **3a, b**

является 1-гидроксииндол (4). Нами были использованы два наиболее удобных метода его получения: конденсацией *o*-нитротолуола с диметилацеталем диметилформаида и последующим восстановлением диметиламиновинилпроизводного 5 цинком в водном растворе NH₄Cl [9, 10] или окислением индолина перекисью водорода в присутствии Na₂WO₄ [11].

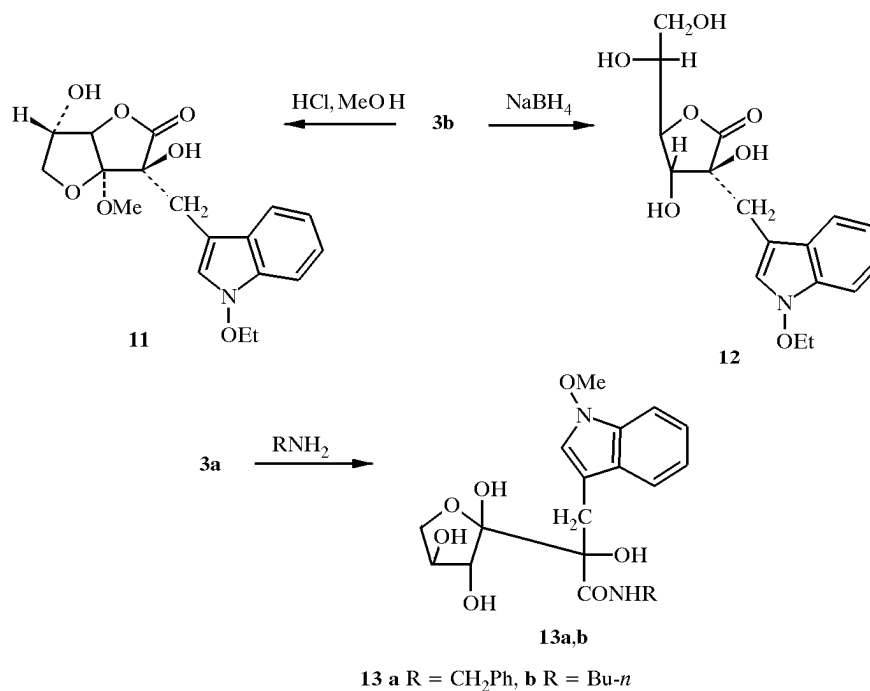


1-Гидроксииндол 4 — нестабильное соединение, поэтому его без очистки вводили в реакцию О-алкилирования. При синтезе по первому методу суммарный выход 1-метоксииндола (6a) составил 31% (считая на *o*-нитротолуол), при использовании второго метода 44%, а 1-этоксииндола (6b) — 41% (считая на индолин).

1-Алкоксииндолы 6a,b были превращены в соответствующие 3-формилпроизводные 7a,b, которые далее восстанавливали NaBH₄ в этаноле до 1-алкокси-3-гидроксиметилиндолов 8a,b. Последние сразу вводили в конденсацию с L-аскорбиновой кислотой 2. В результате были получены целевые продукты 3a,b с выходами 70 и 65% (в расчете на соответствующий 1-алкокси-3-формилиндол 7). Синтез N-алкоксиаскорбиенов по этой схеме был описан ранее [12], однако мы показали, что помимо этих соединений в реакционной смеси содержится смолообразная смесь побочных веществ, из которой методом препаративной ТСХ были выделены 1'-метокси-2'-[(1'-метоксииндол-3''-ил)метил]аскорбиен (9a) или его 1'-этоксианалог 9b с выходами 4.2 и 2.5%, а также ди(1-метоксииндол-3-ил)метан (10a) или его 1-этоксианалог 10b с выходами около 8.3 и 9.0%. N-Этоксиаскорбиен 3b в метанольном растворе HCl образует 3-ОМе гликозид 11 с выходом 55%. Под действием NaBH₄ в соединении 3b восстанавливается гемикетальная группа в положении 3 и с выходом 60% образуется лактон [2-С-(1-этоксииндол-3-ил)метил]-L-гулоновой кислоты (12). Структура последнего была установлена с помощью ПМР с использованием эффекта Оверхаузера: поскольку при подавлении сигнала протона 3-Н снижается интенсивность сигналов 2-ОН, 5-Н, 5-ОН и 6-ОН, а интенсивность сигнала группы СН₂ не изменяется, можно сделать вывод об относительном *цис*-расположении протона 3-Н и группы 2-ОН, т. е. соединение 12 имеет R-конфигурацию при атоме С₍₃₎ и является производным L-гулоновой кислоты.



N-Метоксиаскорбиген **3a** реагирует с первичными аминами с раскрытием лактонного кольца и образованием бензиламида **13a** (выход 60%) или бутиламида **13b** (55%) 2-С-[(1-метоксииндол-3-ил)]- α -L-ксило-3-гексулофуранозоновой кислоты.



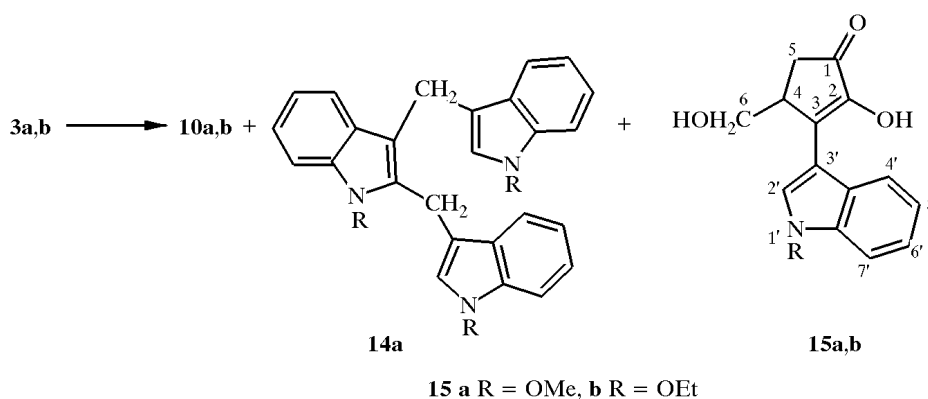
В приведенных примерах химическое поведение N-алкоксиаскорбигенов **3a,b** аналогично поведению аскорбигена **1**, а также его фенильных аналогов [13–16], в щелочной же или кислой среде поведение соединений **3a,b** и **1** различно. Так, в кислой среде алкоксиаскорбигены значительно стабильнее аскорбигена **1**. В приведенной ниже таблице сопоставлена устойчивость соединений **1** и **3a** в водно-метанольном растворе при pH < 1 (по данным

ВЭЖХ). Метоксиаскорбиген **3a**, в отличие от менее устойчивого аскорбигена **1**, в исследуемом растворе исчезает только после нагревания до 60 °С в течение 4–5 ч.

Стабильность аскорбигенов в кислой среде (pH<1, 37 °С)

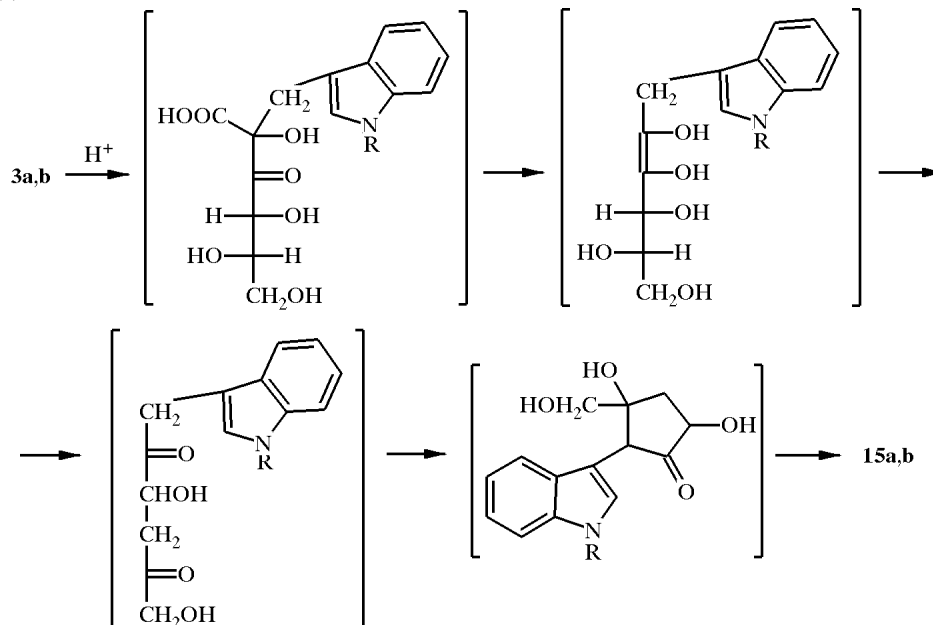
Соединение	Исходное соединение, %	
	через 3 ч	через 3 дня
Аскорбиген 1	90	15
Неоаскорбиген 3a	~98	85—90

В достаточно жестких кислых условиях N-алкоксиаскорбигены **3a,b** подобно аскорбигену, освобождая аскорбиновую кислоту, дают продукты олигомеризации производных 1-алкокси-3-метилениндолина — бис(1-алкоксииндол-3-ил)метаны **10a,b** (выход около 30%), образующиеся также в качестве побочных продуктов при синтезе соединений **3a,b**. В случае метоксиаскорбигена **3a** с выходом 1–2% удалось выделить 1-метокси-2,3-ди[(1-метоксииндол-3-ил)метил]индол (**14a**), идентифицированный по масс-спектру.

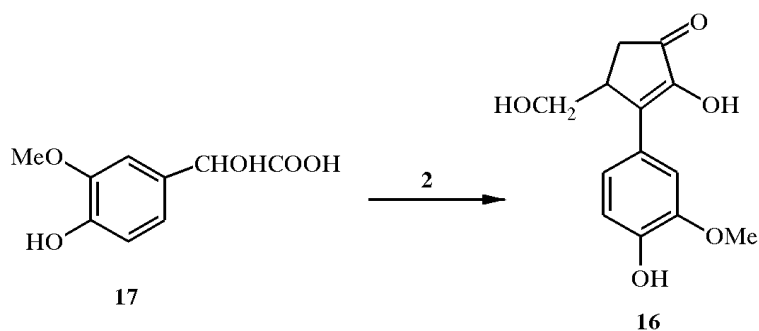


Однако наибольший интерес представляет то, что в кислой среде из соединений **3a,b** образуются также продукты их трансформации, содержащие остаток аскорбиновой кислоты, — 2-гидрокси-3-(1'-метоксииндол-3'-ил)-(15a) или 2-гидрокси-3-(1'-этоксииндол-3'-ил)-4-гидроксиметилциклопент-2-енон (**15b**) соответственно. После нагревания неоаскорбигена **3a** в течение 3 дней при 37 °С (pH ~1,0) количество кетона **15a**, по данным ВЭЖХ, составило 9%, а 85% исходного соединения **3a** осталось неизменным. При 60 °С в течение 4–5 ч расходуется почти весь неоаскорбиген, а количество циклопентенона **15a** увеличивается до 15–20%, хотя основным продуктом трансформации является ди(1-метоксииндол-3-ил)метан (**10a**). Таким образом, впервые показано, что аскорбигены в кислой среде могут подвергаться превращениям по двум независимым направлениям: с выделением аскорбиновой кислоты или по предполагаемой схеме, которая включает раскрытие лактонного и фуранозного циклов, декарбоксилирование, дегидратацию с образованием дикетона, альдольную конденсацию и перегруппировку связей с образованием соединений **15a,b**. По-видимому, стабильность неоаскорбигена **3a** в кислотах и пониженная нуклеофильность атома C₍₂₎ индольного кольца

(вследствие электронного, а также стерического влияния заместителей при азоте) затрудняют отщепление аскорбиновой кислоты и образование олигомеров 1-алкоксиметилидениндолининов, что ведет к повышению выхода производных циклопентенонов **15a,b**. Последние обладают сильной флуоресценцией, что облегчает их выделение хроматографическими методами.



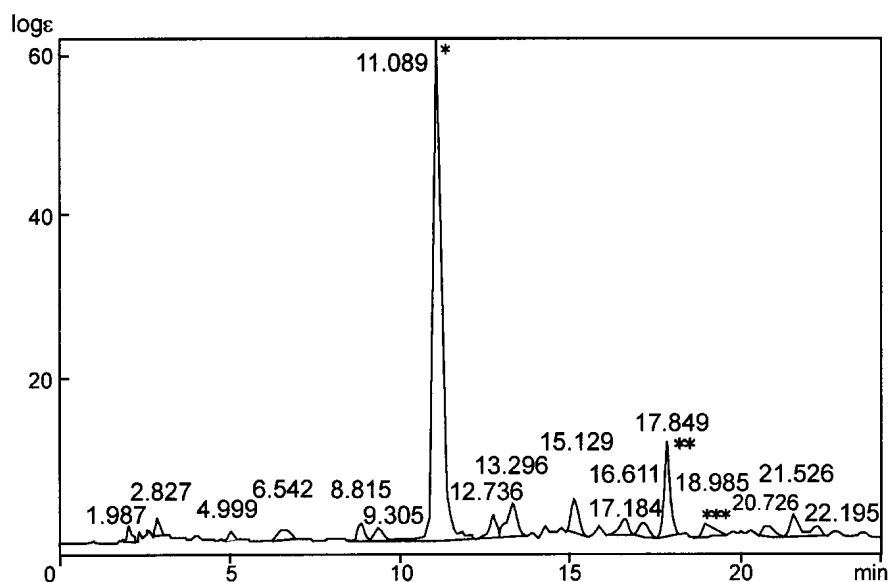
Ранее получено производное циклопентенона **16** при конденсации ваниломиндальной кислоты (**17**) с аскорбиновой кислотой [17]. Было высказано предположение, что в соединении **17** присутствие карбоксильной группы в бензильном положении облегчает протекание каскада реакций, следующих одна за другой с образованием производного циклопентенона **16**.



Хроматографический и масс-спектрометрический анализ веществ, образующихся при кислотном распаде неоаскорбигена, показал, что при этом не происходит образования производных 5Н,11Н-индоло[3,2-*b*]карбазола. Интересно отметить, что N-алкоксиаскорбигены значительно стабильнее аскорбигена также и в щелочных условиях.

Мы использовали синтезированные нами соединения **1** и **3a** для

определения содержания этих природных веществ в капусте кольраби (*Brassica caulorapa*), репе (*Brassica rapa*) и редисе (*Raphanus sativus*). Ранее было показано, что содержание неоаскорбигена в корнеплодах семейства крестоцветных выше, чем в листовых овощах [7, 18]. На рисунке представлена хроматограмма, полученная при ВЭЖХ экстракта гомогенизированного свежего стеблеплода капусты кольраби. В килограмме свежей кольраби содержится 22.50 мг аскорбигена и 3.50 мг неоаскорбигена, в свежей репе соответственно 15.94 и 14.56 мг. В редисе неоаскорбиген практически отсутствовал.



ВЭЖХ экстракта из капусты кольраби: * аскорбиген (1); ** неоаскорбиген (3а); *** 3-гидроксиметилиндола

Относительно низкое содержание неоаскорбигена по сравнению с аскорбигеном в овощах, устойчивость неоаскорбигена в кислой среде, вследствие чего он не является донором аскорбиновой кислоты в биологических условиях (под действием желудочного сока) и отсутствие среди продуктов его трансформации конденсированных гетероциклических систем типа индолокарбазола позволяют заключить, что биологическая роль неоаскорбигена менее важна или во всяком случае иная, чем у аскорбигена. В то же время образующиеся из алкоксиаскорбигенов в жестких условиях производные циклопентенона, которые можно рассматривать как С-нуклеозиды нового типа, представляют несомненный интерес и заслуживают дальнейшего изучения.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ПМР получены на спектрометре Varian VXR-400 (400 МГц). Контроль за ходом реакций и чистотой соединений осуществляли с помощью ТСХ на пластинках Merck Kieselgel F₂₅₄, препаративную ТСХ проводили на стеклянных пластинках 20×20 см со слоем силикагеля 0.5 мм (Kieselgel 60 F₂₅₄), используя системы хлороформ—метанол, 10:1 (А), 8:1 (В), 5:1 (С), 12:1 (D) или хлороформ (Е). Масс-спектры электронного удара регистрировали на спектрометре SSQ 710 Finnigan. Спектры ВЭЖХ получены на жидкостном хроматографе Shimadzu LC 10 на колонке Diasorb C-16 (4.0×250 мм, 7 мкм, БиоХимМак, Россия) с детектором, работающим при

280 нм при объеме инъекций 10 мкл. Подвижные фазы: 0.01M H₃PO₄, pH 2.6 (А); ацетонитрил (В) при линейном градиенте фазы В в фазе А от 10 до 45% (30 мин) и скорости потока 1.3 мл/мин.

1-Алкокси-3-формилиндола **7a,b** получены по методике работы [12].

2-С-[(1'-Метоксининдол-3'-ил)метил]- α -L-ксило-3-гексулофуранозоно-1,4-лактон(неоаскорбиген **3a), ди(1-метоксининдол-3-ил)метан (**10a**) и 2-С-{1'-метокси-2'-[(1''-метоксининдол-3''-ил)метил]индол-3'-ил}метил]- α -L-ксило-3-гексулофуранозоно-1,4-лактон (**9a**).** Раствор 260 мг (1.49 ммоль) 1-метокси-3-формилиндола (**7a**) в 8 мл этанола перемешивают при нагревании до 40 °С с 169 мг (4.44 ммоль) NaBH₄. Через 10 мин реакционную смесь отфильтровывают от непрореагировавшего NaBH₄, частично упаривают, разбавляют водой. Продукт **3a** трижды экстрагируют эфиром, экстракт промывают водой, насыщенной NaCl, сушат над Na₂SO₄ и упаривают. Остаток растворяют в 3 мл этанола и добавляют к раствору 393 мг (2.24 ммоль) аскорбиновой кислоты в 10 мл цитратно-фосфатного буфера, pH 4.2. Реакционную смесь перемешивают при комнатной температуре в течение 16 ч. Раствор, содержащий продукт **3a**, декантируют и дважды экстрагируют этилацетатом. Экстракт сушат над Na₂SO₄ и упаривают до образования пены кремового цвета. Получают 350 мг неоаскорбигена **3a** (70% на **7a**). *R_f* 0.42 (А), *R_t* 17.85 мин. Масс-спектр ЭУ, *m/z* (*I*_{отн.}, %): 335 [M]⁺ (20), 305 [M-OCH₂]⁺ (15), 160 [CH₂C₈H₅NOMe]⁺ (100). [α]_D²⁰ +8° (С 0.05, метанол). Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD): 7.60 (1H, д, *J*_{4',5'} = 8.1, *J*_{4',6'} = 0.9 Гц, 4'-H); 7.35 (1H, д, *J*_{6',7'} = 8.1, *J*_{5',7'} = 1.1 Гц, 7'-H); 7.33 (1H, с, 2'-H); 7.17 (1H, т, *J*_{5',6'} = 7.1 Гц, 5'-H); 7.02 (1H, т, *J*_{6',5'} = 7.1 Гц, 6'-H); 4.22 (1H, м, 5-H); 4.05 (3H, с, OCH₃); 4.13 (1H, д, д, *J*_{6a,6b} = 9.7, *J*_{5,6a} = 3.4 Гц, 6-H_a); 3.99 (1H, д, д, *J*_{5,6b} = 5.7 Гц, 6-H_b); 3.87 (1H, с, 4-H); 3.33 (1H, д, *J*_{gem} = 15.0 Гц, CH₂-C₈H₅NOMe); 3.19 м. д. (1H, д, *J*_{gem} = 15.0 Гц, CH₂-C₈H₅NOMe). Остаток в колбе после декантации растворяют в хлороформе, из раствора с помощью препаративной ТСХ на стеклянных пластинках в системе Е выделяют 19.0 мг (8.3% на **7a**) соединения **10a**, *R_f* 0.70 (Е), *R_t* 24.10 мин. Масс-спектр ЭУ, *m/z* (*I*_{отн.}, %): 306 [M]⁺ (100), 275 [M-OMe]⁺ (72), 243 [M-2OMe-H]⁺ (24). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 7.66 (2H, д, *J*_{4,5} = 8.0, *J*_{4,6} = 1.0 Гц, 4-H); 7.41 (2H, д, *J*_{6,7} = 8.1, *J*_{5,7} = 0.9 Гц, 7-H); 7.23 (2H, с, 2-H); 7.19 (2H, т, *J*_{5,6} = 7.2, *J*_{4,5} = 8.0 Гц, 5-H); 7.03 (2H, т, *J*_{5,6} = 7.2, *J*_{6,7} = 8.1 Гц, 6-H); 4.15 (2H, ш. с, CH₂); 4.01 м. д. (6H, с, OCH₃).

С тех же пластинок, после выделения соединения **10a**, при повторном хроматографировании в системе А выделяют 16 мг (4,2% на **7a**) лактона **9a**. *R_f* 0.55 (А); *R_t* 22.08 мин. Масс-спектр ЭУ, *m/z* (*I*_{отн.}, %): 494 [M]⁺ (100). Масс-спектр ЭУ высокого разрешения, *m/z*: найдено: 494.5041. С₂₆H₂₆N₂O₈. Вычислено: 494.5057. Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD): 7.62 (1H, д, *J*_{4',5'} = 8.2 Гц, 4''-H); 7.51 (1H, д, *J*_{4',5'} = 7.5, 4''-H); 7.38 (1H, д, *J*_{6',7'} = 8.1 Гц, 7''-H); 7.32 (1H, д, *J*_{6',7'} = 8.0 Гц, 7''-H); 7.17 (1H, т, *J*_{5',6'} = 7.2 Гц, 5''-H); 7.13 (1H, т, *J*_{5',7'} = 1.1, *J*_{5',6'} = 7.1 Гц, 5''-H); 7.09 (1H, с, 2''-H); 7.03 (1H, т, *J*_{6',5'} = 7.2 Гц, 6''-H); 6.99 (1H, т, *J*_{6',7'} = 7.1 Гц, 6''-H); 4.31 (1H, м, 5''-H); 4.10 (1H, д, д, *J*_{6a,6b} = 9.7, *J*_{5,6a} = 3.4 Гц, 6''-H_a); 4.08 (3H, с, OCH₃); 4.02 (1H, д, д, *J*_{5,6b} = 5.7 Гц, 6''-H_b); 3.99 (3H, с, OCH₃); 3.77 (1H, с, 4''-H); 3.30 (1H, д, *J*_{gem} = 15.0 Гц, CH₂-C₈H₅NOMe); 3.20 м. д. (1H, д, CH₂-C₈H₅NOMe).

2-С-[(1'-Этоксининдол-3'-ил)метил]- α -L-ксило-3-гексулофуранозоно-1,4-лактон (3b**), ди(1-этоксининдол-3-ил)метан (**10b**) и 2-С-{1'-этокси-2'-[(1''-этоксининдол-3''-ил)метил]индол-3'-ил}метил]- α -L-ксило-3-гексулофуранозоно-1,4-лактон (**9b**).** N-Этоксиаскорбиген **3b** (395 мг, 65%) получают аналогично N-метоксиаскорбигену **3a** исходя из 330 мг (1,74 ммоль) 1-этокси-3-формилиндола **8b**. *R_f* 0.41 (А); *R_t* 20.95 мин. [α]_D²⁰ +10.1° (С 0.85, этилацетат). Масс-спектр ЭУ, *m/z* (*I*_{отн.}, %): 349 [M]⁺ (20), 174 [CH₂C₈H₅NOEt]⁺ (100). Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD): 7.61 (1H, д, *J*_{4',5'} = 7.8 Гц, 4'-H); 7.34 (1H, д, *J*_{6',7'} = 8.1, *J*_{5',7'} = 1.1 Гц, 7'-H); 7.31 (1H, с, 2'-H); 7.15 (1H, т, *J*_{5',6'} = 7.2 Гц, 5'-H); 7.01 (1H, т, *J*_{6',5'} = 7.1 Гц, 6'-H); 4.28 (2H, д, д, *J* = 7.1 Гц, CH₂CH₃); 4.23 (1H, м, 5-H); 4.13 (1H, д, д, *J*_{6a,6b} = 9.7, *J*_{5,6a} = 3.4 Гц, 6-H_a); 3.99 (1H, д, д, *J*_{5,6b} = 5.7 Гц, 6-H_b); 3.88 (1H, с, 4-H); 3.34 (1H, д, *J*_{gem} = 15.0 Гц, CH₂-C₈H₅NOMe); 3.18 (1H, д, *J*_{gem} = 15.0 Гц, CH₂-C₈H₅NOMe); 1.37 м.д. (3H, т, *J* = 7.1 Гц, CH₂CH₃).

Соединение **10b** выделяют аналогично соединению **10a**. Выход 26 мг (9% на **7b**). *R_f* 0.68 (Е), *R_t* 24.53 мин. Масс-спектр ЭУ, *m/z* (*I*_{отн.}, %): 334 [M]⁺ (15), 289 [M-OEt]⁺ (100). Спектр ЯМР ¹H (CDCl₃): 7.67 (2H, д, *J*_{4,5} = 8.0, *J*_{4,6} = 1.0 Гц, 4-H); 7.40 (2H, д, *J*_{6,7} = 8.1, *J*_{5,7} = 0.9 Гц, 7-H); 7.23 (2H, с, 2-H); 7.18 (2H, т, *J*_{5,6} = 7.1, *J*_{4,5} = 8.0 Гц, 5-H); 7.03 (2H, т, *J*_{7,6} = 7.1, *J*_{6,5} = 8.0 Гц, 6-H); 4.28 (4H, д, д, *J* = 7.1 Гц, CH₂CH₃); 4.15 (2H, ш. с, CH₂); 1.36 м. д. (6H, т, *J* = 7.1 Гц, CH₂CH₃).

Лактон **9b** выделяют аналогично соединению **9a**. Выход 11.0 мг (2,5% на **7b**). *R_f* 0.53 (А), *R_t* 25.03 мин. Масс-спектр ЭУ, *m/z* (*I*_{отн.}, %): 522 [M]⁺ (100). Спектр ПМР (CD₃OD), за исключением сигналов протонов этоксигрупп, полностью аналогичен спектру соединения **9a**.

3-(1'-Метоксининдол-3'-ил)-2-гидрокси-4-гидроксиметилциклопент-2-енон (15a**), 1-метокси-2,3-ди[(1'-метоксининдол-3'-ил)метил]индол (**14a**).** Раствор 100 мг (0.3 ммоль) соединения **3a** в 6 мл метанола и 6 мл 1N HCl перемешивают 4—5 ч при 60—65 °С до исчезновения большей части исходного неоаскорбигена (контроль ТСХ, система А). Из реакционной смеси упаривают метанол, остаток разбавляют водой и трижды экстрагируют этилацетатом. Экстракт промывают раствором, сушат над Na₂SO₄ и упаривают. Из остатка с помощью препаративной ТСХ в системе А выделяют сильно флуоресцирующую фракцию с *R_f*

0.72 и фракцию с R_f 0.90. При повторной очистке фракции с R_f 0.72 в системе А выделяют 9 мг (10%) продукта **15a**. R_f 0.60 (А), R_t 15.25 мин. Масс-спектр ЭУ высокого разрешения, m/z : найдено: 242.0843. $C_{15}H_{15}NO_4 \cdot CH_3O$. Вычислено: 242.0830. Найдено: 243.0894. $C_{15}H_{15}NO_4 \cdot CH_2O$. Вычислено: 243.0895. Спектр ЯМР 1H (CD_3OD): 8.21 (1H, с, 2'-H); 7.97 (1H, д, $J_{4,5'} = 7.8$ Гц, 4'-H); 7.51 (1H, д, $J_{6,7'} = 8.1$, $J_{5,7'} = 1.1$ Гц, 7'-H); 7.29 (1H, т, $J_{6,5'} = 7.1$ Гц, 6'-H); 7.72 (1H, м, 4-H); 3.43 (1H, д, д, $J_{gem} = 10.7$, $J_{4,6b} = 3.10$ Гц, 6-H_b); 2.66 (1H, д, д, $J_{gem} = 18.61$, $J_{5a,4} = 6.15$ Гц, 5-H_a); 2.45 м. д. (1H, д, д, $J_{gem} = 18.61$, $J_{5b,4} = 0.8$ Гц, 5-H_b).

Из фракции с R_f 0.9 (А) с помощью препаративной ТСХ в системе Е выделяют 1.5 мг (1%) соединения **14a**. R_f 0.57 (Е). Масс-спектр ЭУ, m/z ($I_{отн.}$ %): 465 $[M]^+$ (100), 434 $[M-OMe]^+$ (74), 403 $[M-2OMe]^+$ (30), 372 $[M-3OMe]^+$ (35), 287 $[M-C_8H_5NOMe-OMe]^+$ (28), 256 $[M-C_8H_5NOMe-2OMe]^+$ (42), 160 $[CH_2C_8H_5NOMe]^+$ (80). Масс-спектр ЭУ высокого разрешения, m/z : найдено: 465.5679. $C_{29}H_{27}N_3O_3$. Вычислено: 465.5684.

3-(1'-Этоксиндол-3'-ил)-2-гидрокси-4-гидроксиметилциклопент-2-енон (15b). Получают аналогично соединению **15a** из 100 мг (0.28 ммоль) соединения **3b**. Выход 12 мг (15%). R_f 0.70 (А); R_t 15.24 мин. Масс-спектр ЭУ высокого разрешения, m/z : найдено: 287.1169 $[M]^+$. $C_{16}H_{17}NO_4$. Вычислено: 287.1180. Спектр ЯМР 1H (CD_3OD): 8.18 (1H, с, 2'-H); 7.93 (1H, д, $J_{4,5'} = 8.2$ Гц, 4'-H); 7.47 (1H, д, $J_{6,7'} = 8.1$, $J_{5,7'} = 1.1$ Гц, 7'-H); 7.26 (1H, т, $J_{5,6'} = 7.1$ Гц, 6'-H); 7.18 (1H, т, $J_{6,5'} = 7.2$ Гц, 5'-H); 4.37 (2H, д, д, $J = 7.1$ Гц, CH_2CH_3); 4.06 (1H, д, д, $J_{gem} = 10.7$, $J_{4,6a} = 7.6$ Гц, 6-H_a); 3.70 (1H, м, 4-H); 3.41 (1H, д, д, $J_{gem} = 10.7$, $J_{4,6b} = 3.0$ Гц, 6-H_b); 2.65 (1H, д, д, $J_{gem} = 18.56$, $J_{5a,4} = 6.10$ Гц, 5-H_a); 2.47 (1H, д, $J_{gem} = 18.61$ Гц, 5-H_b); 1.40 м. д. (3H, т, $J = 7.1$ Гц, CH_2CH_3).

3-О-Метилгликозид 2-С-[(1'-этоксиндол-3'-ил)метил]- α -L-ксило-3-гексулофуранозоно-1,4-лактона (11). Раствор 40 мг (0.115 ммоль) N-этоксияскорбигена **3b** в 1.5 мл абс. MeOH, насыщенного HCl, кипятят с перемешиванием в течение 2 дней. Из остатка после упаривания реакционной смеси препаративной ТСХ в системе В выделяют 23 мг (55%) продукта **11**. R_f 0.25 (А); $[\alpha]_D^{20} +14.6^\circ$ (С 0.49, метанол). Масс-спектр ЭУ, m/z ($I_{отн.}$ %): 363 $[M]^+$ (20), 174 $[CH_2C_8H_5NOEt]^+$ (100). Масс-спектр ЭУ высокого разрешения, m/z : найдено: 363.3694. $C_{18}H_{21}NO_7$. Вычислено 363.3706. Спектр ЯМР 1H (CD_3OD): 7.59 (1H, д, $J_{4,5'} = 8.2$ Гц, 4'-H); 7.35 (1H, д, $J_{5,7'} = 1.1$ Гц, 7'-H); 7.28 (1H, с, 2'-H); 7.17 (1H, т, $J_{5,6'} = 7.1$ Гц, 5'-H); 7.02 (1H, т, $J_{5,6'} = 7.2$ Гц, 6'-H); 4.28 (1H, м, $J_{gem} = 9.1$, $J_{5,6a} = 3.3$ Гц, 6-H_a); 4.27 (2H, д, д, $J = 7.1$ Гц, CH_2CH_3); 4.23 (1H, м, 5-H); 3.85 (1H, м, $J_{5,6b} = 6.3$ Гц, 6-H_b); 3.84 (1H, с, 4-H); 3.58 (3H, с, OCH₃); 3.32 (1H, д, $J_{gem} = 14.5$ Гц, $CH_2-C_8H_5NOEt$); 3.20 (1H, д, $J_{gem} = 14.5$ Гц, $CH_2-C_8H_5NOEt$); 1.35 м. д. (3H, т, $J_{1,2} = 7.1$ Гц, CH_2CH_3).

Лактон [2-С-(1'-этоксиндол-3'-ил)метил]-L-гулоновой кислоты (12). В раствор 50 мг (0.143 ммоль) этоксиаскорбигена **3b** в 4 мл метанола при перемешивании добавляют 17 мг (0.45 ммоль) NaBH₄. Через 15 мин реакционную смесь подкисляют до pH 2, разбавляют водой, дважды экстрагируют этилацетатом. Из сухого экстракта после препаративной ТСХ в системе С выделяют 30 мг (60%) продукта **12**. R_f 0.35 (С); $[\alpha]_D^{20} +18.6^\circ$ (С 0.75, метанол). Масс-спектр ЭУ, m/z ($I_{отн.}$ %): 351 $[M]^+$ (60), 174 $[CH_2C_8H_5NOEt]^+$ (100). Масс-спектр ЭУ высокого разрешения, m/z : найдено: 351.3584. $C_{17}H_{21}NO_7$. Вычислено: 351.3594. Спектр ЯМР 1H (ацетон-d₆): 7.63 (1H, д, $J_{4,5'} = 8.1$ Гц, 4'-H); 7.40 (1H, с, 2'-H); 7.37 (1H, д, $J_{6,7'} = 8.1$ Гц, 7'-H); 7.15 (1H, т, $J_{5,6'} = 7.1$ Гц, 5'-H); 7.02 (1H, т, $J_{5,6'} = 7.1$ Гц, 6'-H); 5.17 (1H, д, $J_{3,3-OH} = 5.3$ Гц, 3-OH); 4.89 (1H, с, 2-OH); 4.53 (1H, д, д, $J_{3,4} = 7.2$, $J_{3,3-OH} = 5.3$ Гц, 3-H); 4.36 (1H, д, $J_{4,5-OH} = 6.7$ Гц, 5-OH); 4.30 (2H, д, д, $J = 7.1$ Гц, CH_2CH_3); 4.09 (1H, д, д, $J_{3,4} = 7.2$, $J_{4,5} = 2.9$ Гц, 4-H); 3.94 (1H, т, $J_{6,6-OH} = 4.3$ Гц, 6-OH); 3.79 (1H, м, 5-H); 3.62 (1H, м, $J_{6a,b} = 11.1$, $J_{5,6b} = 6.8$ Гц, 6-H_a); 3.55 (1H, м, 6-H_b); 3.34 (1H, д, $J_{gem} = 14.0$ Гц, $CH_2-C_8H_5NOEt$); 3.16 (1H, д, $J_{gem} = 14.0$ Гц, $CH_2-C_8H_5NOEt$); 1.35 (3H, т, $J = 7.1$ Гц, CH_2CH_3).

Бензиламид 2-С-[(1-метоксиндол-3-ил)- α -L-ксило-3-гексулофуранозононой кислоты (13a). К раствору 20 мг (0.060 ммоль) неоскорбигена **3a** в 2 мл метанола добавляют 19 мг (0.18 ммоль) бензиламина и перемешивают 16 ч. Из остатка после упаривания реакционной смеси на двух пластинках в системе D выделяют 12 мг (47%) продукта **13a**. R_f 0.73 (А). Масс-спектр ЭУ, m/z ($I_{отн.}$ %): 441 $[M]^+$ (5), 160 $[CH_2C_8H_5NOMe]^+$ (100), 146 $[C_8H_5NOMe]^+$ (35), 106 $[PhCH_2NH]^+$ (20), 91 $[CH_2Ph]^+$ (50). Спектр ЯМР 1H (ацетон-d₆): 7.72 (1H, с, NH); 7.11 (5H, м, Ph); 6.84 (2H, д, $J_{gem} = 6.9$ Гц, CH_2Ph); 7.67 (1H, д, $J_{4,5'} = 8.2$ Гц, 4'-H); 7.40 (1H, д, $J_{7,6'} = 8.2$, $J_{5,7'} = 1.0$ Гц, 7'-H); 7.27 (1H, с, 2'-H); 7.19 (1H, т, $J_{5,6'} = 7.2$ Гц, 5'-H); 7.04 (1H, т, $J_{5,6'} = 7.1$ Гц, 6'-H); 3.98 (3H, с, OCH₃); 4.35 (1H, м, 4-H); 4.25 (1H, м, 5-H); 4.04 (1H, д, д, $J_{5,6a} = 5.1$, $J_{6a,b} = 9.14$ Гц, 6-H_a); 3.63 (1H, д, д, $J_{5,6b} = 3.3$, $J_{6a,b} = 9.14$ Гц, 6-H_b); 3.32 (1H, д, $J_{gem} = 14.8$ Гц, $CH_2C_8H_5NOMe$); 3.20 м. д. (1H, д, $J_{gem} = 14.8$ Гц, $CH_2C_8H_5NOMe$).

Бутиламид 2-С-[(1-метоксиндол-3-ил)- α -L-ксило-3-гексулофуранозононой кислоты (13b). Раствор 25 мг (0.074 ммоль) неоскорбигена **3a** в 0.4 мл *n*-бутиламина перемешивают в течение 0.5 ч. Из остатка после упаривания бутиламина с помощью препаративной ТСХ в системе А выделяют 16 мг (55%) продукта **13b**. R_f 0.83 (А). Масс-спектр ЭУ, m/z ($I_{отн.}$ %): 408 $[M]^+$ (20), 160 $[CH_2C_8H_5NOMe]^+$ (100). Масс-спектр ЭУ высокого разрешения, m/z : найдено: 408.4565. $C_{20}H_{28}N_2O_7$. Вычислено: 408.45536. Спектр ЯМР 1H (CD_3OD): 7.63 (1H, д, $J_{4,5'} = 8.2$ Гц,

4'-H); 7.35 (1H, д, $J_{7,6'} = 8.1$, $J_{5,7} = 1.0$ Гц, 7'-H); 7.25 (1H, с, 2'-H); 7.15 (1H, т, $J_{5,6'} = 7.2$ Гц, 5'-H); 7.03 (1H, т, $J = 7.1$ Гц, 6'-H); 4.05 (3H, с, OCH₃); 4.32 (1H, д, $J_{4,5} = 5.1$ Гц, 4-H); 4.30 (1H, д, д, 5-H); 4.10 (1H, д, д, $J_{5,6a} = 6.0$, $J_{6a,b} = 8.8$ Гц, 6-H_a); 3.61 (1H, д, д, $J_{5,6b} = 4.6$, $J_{6a,b} = 8.8$ Гц, 6-H_b); 3.45 (1H, д, $J_{gem} = 14.8$ Гц, CH₂C₈H₅NOMe); 3.18 (1H, д, $J_{gem} = 14.8$ Гц, CH₂C₈H₅NOMe); 2.95 (1H, м, CH₂N); 2.78 (1H, м, CH₂N); 0.95 (4H, м, 2CH₂); 0.70 м. д. (3H, т, Me).

Определение содержания аскорбигена и неоаскорбигена в капусте кольраби (*Brassica caulorapa*). Измельчают 500 г стеблеплода капусты кольраби, заливают ацетоном, выдерживают 1 ч при комнатной температуре, отфильтровывают и повторно промывают ацетоном. Объединенный экстракт упаривают, водный остаток экстрагируют этилацетатом (100 мл×3). Сухой этилацетатный экстракт упаривают, остаток растворяют в метаноле, доводят объем до 25 мл и отбирают аликвоту для определения с помощью ВЭЖХ содержания аскорбигена и неоаскорбигена с использованием в качестве стандартов соответствующих синтетических образцов.

Определение содержания аскорбигена и неоаскорбигена в репе (*Brassica rapa*) проводят аналогично.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. E. Piironen, A. I. Virtanen, *Acta chem. scand.*, **16**, 1286 (1962).
2. M. Kutacek, Z. Prochazka, D. Grunberger, R. Stajkova, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, **27**, 1278 (1962).
3. Z. Prochazka, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, **28**, 544 (1963).
4. K. R. Grose, L. F. Bjeldanes, *Chem. Res. Toxicol.*, **5**, 188 (1992).
5. L. F. Bjeldanes, J. Y. Kim, K. R. Grose, J. C. Bartholomew, *Proc. Natl. Acad. Sci. USA*, **88**, 9543 (1991).
6. M. Gillner, J. Bergman, C. Cambillau, J.-A. Gustafsson, *Mol. Pharmacol.*, **28**, 357 (1985).
7. R. McDanell, A. E. M. McLean, A. B. Henley, R. K. Heaney, G. R. Fenwick, *Food. Chem. Toxicol.*, **26**, 59 (1988).
8. L. G. Aleksandrova, A. M. Korolev, M. N. Preobrazhenskaya, *Food Chem.*, **45**, 61 (1992).
9. M. Somei, T. Shoda, *Heterocycles*, **16**, 1523 (1981).
10. M. Somei, S. Ohnishi, J. Shoken, *Chem. Pharm. Bull.*, **34**, 677 (1986).
11. S. Kawasaki, M. Somei, *Heterocycles*, **31**, 1605 (1990).
12. В. И. Муханов, М. М. Каганский, А. А. Сорокин, С. Г. Антонян, Г. В. Тананова, Л. Л. Михайлевская, А. С. Кинзирский, М. Н. Преображенская, *Хим.-фарм. журн.*, **28**, № 7, 6 (1994).
13. A. Poss, R. Belter, *J. Org. Chem.*, **53**, 1535 (1988).
14. G. Kiss, H. Neusom, *Helv. chim. acta*, **46**, 989 (1966).
15. И. Л. Плихтяк, И. В. Ярцева, Зу Ен Хан, М. Н. Преображенская, *Биоорг. химия*, **14**, 1437 (1988).
16. В. И. Муханов, И. В. Ярцева, Б. С. Кикоть, Ю. Ю. Володин, Н. П. Ермакова, М. Н. Преображенская, *Биоорг. химия*, **10**, 544 (1984).
17. M. N. Preobrazhenskaya, I. I. Rozhkov, E. I. Lazhko, L. N. Yudina, A. M. Korolev, *Tetrahedron*, **53**, 6971 (1997).
18. K. Sones, R. Heaney, G. Fenwick, *J. Sci. Food Agric.*, **35**, 712 (1984).

Научно-исследовательский институт
по изысканию новых антибиотиков РАМН,
Москва 119867, Россия

Поступило в редакцию 30.10.98
После доработки 26.05.99