



УДК 547.566 : 577.158

СИНТЕЗ МОНОЭФИРОВ УБИХИНОЛОВ И ИХ ВЗАИМОДЕЙСТВИЕ
С СУКЦИНАТДЕГИДРОГЕНАЗОЙ МИТОХОНДРИЙ

*Божухова А. П., Костырко В. А., Беккер А. Р.,
Обольникова Е. А., Ягужинский Л. С., Филиппова Т. М.,
Самохвалов Г. И.*

Всесоюзный научно-исследовательский витаминный институт, Москва

*Межфакультетская лаборатория биоорганической химии
Московского государственного университета им. М. В. Ломоносова*

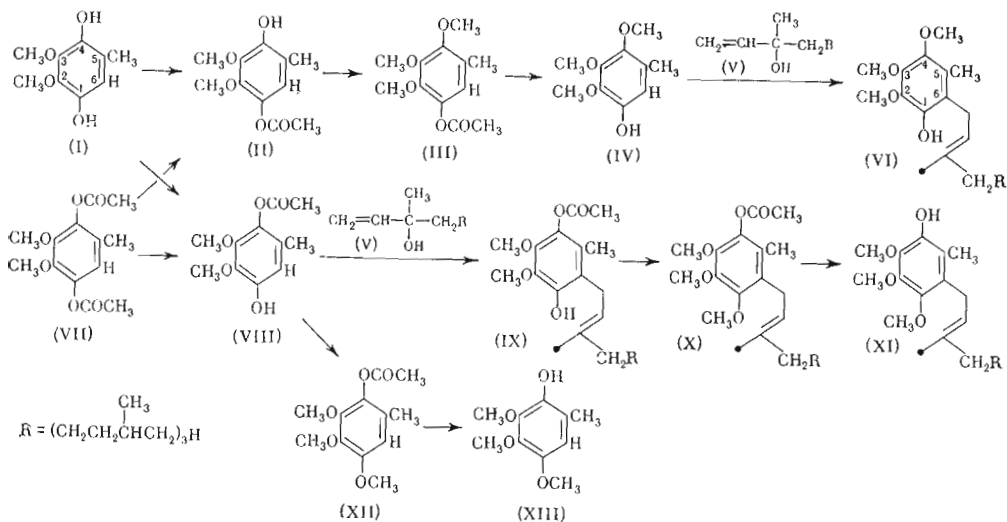
Синтезированы изомерные по положению монометилловые эфиры убихинолов, содержащие у C_6 -ядра остаток фитола или атом водорода. Полученные соединения в концентрации 2-10 мМ ингибируют окисление сукцината и глутамата митохондриями. Эффективность ингибирования сукцинатоксидазы моноэфирами II, III, IV-гексагидроубихинола-4 зависит от взаиморасположения гидроксильной и изопреноидной цепи в молекуле ингибитора. Показано, что фенольные соединения, содержащие две метоксильные группы, эффективнее подавляют сукцинатоксидазу, чем фенолы без метоксильных групп и 1,2-диметоксибензол. Место действия исследованных веществ локализовано в сукцинатдегидрогеназе. Сделан вывод о существовании места связывания восстановленного CoQ в сукцинатдегидрогеназе и об участии в этом связывании гидроксильной и метоксильных групп CoQ.

В мембране митохондрий убихинон (коэнзим Q, CoQ) выполняет функцию переносчика восстановительных эквивалентов от дегидрогеназ к цитохромным комплексам [1]. Ранее Ленац и др. [2], изучая реконструкцию дыхательной цепи различными производными CoQ в митохондриях, из которых CoQ предварительно был удален экстракцией пентаном, пришли к выводу о наличии по крайней мере двух центров связывания CoQ — в NADH-дегидрогеназе и сукцинатдегидрогеназе. Аналогичные выводы были сделаны при изучении ингибирующего действия на дыхательную цепь ряда бензохиноновых аналогов CoQ, содержащих вместо 5-метильной группы гидроксил [3].

Таким образом CoQ, свободно перемещаясь в мембране митохондрий [1], взаимодействует с дыхательной цепью в нескольких местах, причем CoQ может находиться в форме хинона, гидрохинона или семихинона. Исходя из этих представлений, можно ожидать специфического взаимодействия ферментов дыхательной цепи с определенными формами CoQ. Поэтому особенно интересно определить структурные группы, принимающие участие во взаимодействии коэнзима с конкретными ферментами.

Известно, что аналоги CoQ, в которых метильные группы ядра заменены на гидроксил, проявляют ингибирующее действие на ферменты дыхательной цепи. Аналогичное действие помимо уже упомянутых 5-оксибензохинонов [3, 4] проявляет специфический ингибитор NADH-дегидрогеназы — пиридин А [5], близкий по структуре восстановленной форме CoQ. Нам представлялось интересным исследовать свойства аналогов CoQ

с модифицированными гидроксильными группами ядра, для чего были синтезированы метиловые эфиры убихинолов и охарактеризовано их влияние на работу дыхательной цепи. При сравнении эффектов этих соединений с действием более простых фенольных производных и 1,2-диметоксибензола мы надеялись определить роль гидроксила и метоксигрупп во взаимодействии CoQ с соответствующим ферментом. Монометиловые эфиры убихинолов, сохраняя основные элементы структуры CoQ, должны связываться в месте посадки природного кофермента. С другой стороны, блокирование метильной группой одного из гидрохинонных гидроксильных в восстановленном CoQ должно препятствовать участию этих соединений в окислительно-восстановительных превращениях, свойственных самому коферменту. Следовательно, можно ожидать, что монометиловые эфиры убихинолов будут ингибировать дыхание митохондрий.



Направленный синтез 4- и 1-метиловых эфиров (VI) и (XI) осуществлен на основе соответствующих 1- и 4-ацетатов убихинола-0 (II) и (VIII). Синтез соединения (VII) проведен нами избирательным гидролизом диацетата убихинола-0 (VII) 10% раствором едкого кали. Снятие ацетильной группы протекает менее избирательно, если гидролиз вести в присутствии 25% раствора аммиака; в этом случае образуются оба изомерных моноацетата (II) и (VIII) в соотношении $\sim 1 : 5$. Для подтверждения строения выделенных моноацетатов использован эффект ароматического растворителя на химический сдвиг сигналов протонов заместителей ядра в спектрах ЯМР (asis, индуцированный сдвиг) [6]. С появлением ацетильной группы в молекуле убихинола-0 возникает новый диполь — карбонил, что должно менять как локальные, так и молекулярный диполи молекулы. Поэтому для 1- и 4-моноацетатов убихинола-0 можно было ожидать существенно разных эффектов ароматического растворителя на сигналы протона ядра и протонов метильной группы.

Можно видеть (табл. 1), что индуцированные сдвиги для протонов CH_3 -группы и протона ядра в убихиноле-0 (I) и его диацетате (VII) резко различаются. Если считать, что наибольший эффект дает ацетильная группа, ближайшая к индикаторной (H или CH_3), то в 4-моноацетате (VIII) для протонов CH_3 -группы следует ожидать индуцированный сдвиг, близкий соответствующему сдвигу в диацетате (VII), а для протона ядра — близкий соответствующему эффекту в спектре соединения (I). Для 1-моноацетата (II) должна наблюдаться обратная картина. Именно такие эффекты и были обнаружены (см. табл. 1). Поэтому соединения (VIII) и (II) идентифицированы как 4- и 1-ацетаты убихинола-0 соответственно. Интересно

Влияние бензола на химический сдвиг сигналов протонов ($\Delta\delta_{\text{CCl}_4-\text{C}_6\text{D}_6}$, Гц)

Соединение	CH ₃	H	C2-OCH ₃	C3-OCH ₃	CH ₃ COO
(VIII)	+6,8	-9,6	+22,5	+5,7	+16,4
(II)	+0,7	-3,1	+7,6	+26,2	+17,0
(I)	-4,2	-13,1	+25,5(+23,6)	+23,6(+25,5)	--
(VII)	+9,9	-1,8	+6,4(+6,2)	+6,2(+6,4)	+18,8; +20,2

Таблица 2

Ингибирование окисления сукцината и NAD-зависимых субстратов моноэфирными убихинолами и некоторыми модельными соединениями *

Соединение	I ₅₀ (мМ) при окислении	
	сукцината	глутамата+малата
(VI)	(8) **	—
(XI)	2	3
(IV)	(3,5) **	5
(XIII)	5	5
	(5)	3
2,3-Диметоксифенол	3	6
1,2-Диметоксибензол	16	3
Фенол	25	—

* Данные по ингибированию окисления сукцината и глутамата + малата каждым соединением получены в одном и том же опыте с одним препаратом митохондрий. Чувствительность к ингибиторам варьирует в разных препаратах митохондрий примерно в 2 раза. Отклонение получаемых значений эффективности ингибиторов от средней величины не превышает в каждом опыте 10%. Для сравнения эффективности изомеров (VI) и (XI), (IV) и (XIII) в скобках приведены данные, полученные в одном опыте с одним препаратом митохондрий.

** В этом случае для (VI) и (XI) использованы концентрации при подавлении окисления сукцината на 20%, что обусловлено низкой эффективностью ингибитора (VI).

отметить различное влияние бензола на протоны метоксигрупп в соединениях (I), (II), (VII), (VIII). Так, в молекуле убихинола-0 (I) наблюдаются два высоких значения индуцированного сдвига для CH₃O-группы (+23,6 и +25,5 Гц), в его диацетате (VII) — два низких значения (+6,2 и +6,4 Гц), а в моноацетатах (II) и (VIII) — один большой и один малый эффекты. Уменьшение величины $\Delta\delta_{\text{CCl}_4-\text{C}_6\text{D}_6}$ для протонов метоксигрупп при замене гидроксильной группы на ацетатную, возможно, связано с тем, что ацетатная группа создает стерические препятствия для сольватации соседней метоксигруппы.

Обнаруженное для диацетата (VII) различие в устойчивости ацетатных групп к гидролизу является, по-видимому, результатом их стерической неравноценности. Это наблюдение мы использовали для синтеза 1- и 4-ацетатов убихинола-0 (II) и (VIII) прямым ацетилированием убихинола-0. Ацетилирование соединения (I) уксусным ангидридом в пиридине и последующее хроматографическое разделение привело с удовлетворительными выходами к обоим моноацетатам (II) и (VIII) с предпочтительным образованием моноацетата (II).

Для синтеза 4-метилового эфира гексагидрорубихинола-4 (VI) 1-ацетат рубихинола-0 (II) метилировали подистым метилом в 1-уксуснокислый 4-метильный эфир рубихинола-0 (III). Последний гидролизали водно-спиртовой щелочью до 4-метилового эфира рубихинола-0 (IV), идентичного полученному окислением 2,3,4-триметоксилолуола надуксусной кислотой [7]. Алкилирование соединения (IV) изофитолом (V), катализируемое эфиром трехфтористого бора, осуществлялось в бензоле и протекало с более высоким выходом, чем аналогичное алкилирование рубихинола-0 [8]. По данным спектра ЯМР, в CCl_4 соотношение *транс,цис*-изомеров по двойной связи боковой цепи в соединении (VI) составляло 80 : 20 ($\delta_{CH_2, \text{ транс}}$ 1,71 и $\delta_{CH_2, \text{ цис}}$ 1,63 м. д.).

Синтез 1-метилового эфира гексагидрорубихинола-4 (XI) осуществлен алкилированием изофитолом 4-ацетата рубихинола-0 (VIII), последующим метилированием соединения (IX) диметилсульфатом и гидролизом полученного 1-метилового 4-уксуснокислого эфира гексагидрорубихинола-4 (X) метанольным раствором едкого кали.

Для сравнения эффективности ингибирования сукцинатоксидазы монометильными эфирами гексагидрорубихинола-4 (VI) и (XI) с эффективностью соответствующих им моноэфиров рубихинола-0 синтезирован также 1-метильный эфир рубихинола-0 (XIII) через 1-метильный 4-уксуснокислый эфир (XII).

Исследуемые вещества являются ингибиторами окисления сукцината и NAD-зависимых субстратов (табл. 2).

Сравнение способности 1- и 4-метильных эфиров гексагидрорубихинола-4 (VI) и (XI) ингибировать дыхание показывает, что положение оксигруппы оказывает заметное влияние на их ингибирующую активность. 4-Метильный эфир (VI), у которого оксигруппа находится рядом с фитольным остатком, менее эффективно ингибирует сукцинатоксидазу, чем 1-метильный эфир (XI). Моноэфиры рубихинола-0 (IV) и (XIII), не содержащие изопреноидного остатка, одинаково эффективно подавляют окисление сукцината. Из этих данных следует, что взаимодействие ингибиторов с сукцинатоксидазой существенно зависит от присутствия в молекуле ингибитора изопреноидного остатка.

Метильные эфиры (VI) и (XI) плохо растворимы в среде инкубации. Максимальное ингибирование моноэфиром (XI) не превышает 70%, соединение (VI) ингибирует еще менее эффективно. По-видимому, это связано с насыщением водного раствора добавленными соединениями. Таким образом, полученные результаты не отражают истинного сродства ингибиторов (VI) и (XI) к ферменту. Это делает затруднительным сопоставление эффективности их действия с эффективностью более растворимых аналогов [9]. С другой стороны, ранее было показано, что сукцинатоксидаза мало специфична по отношению к гомологам CoQ с различной длиной боковой цепи [2]. По этой причине для выяснения роли фенольной и метоксильных групп использовались соединения без изопреноидной цепи, что снимало проблему растворимости.

При сопоставлении эффективности ингибирования синтезированных монометильных эфиров (IV) и (XIII) с эффективностью более простых соединений, таких, как галогензамещенные фенолы [10], 2,3-диметоксифенол [11] и 1,2-диметоксибензол, выявляется роль фенольного гидроксила и метоксигрупп в связывании этих молекул в сукцинатоксидазе. Из табл. 2 видно, что монометильные эфиры рубихинола-0 (IV) и (XIII) и 2,3-диметоксифенол, содержащие рядом с фенольным гидроксилом две метоксигруппы, подавляют окисление сукцината в концентрациях, в несколько раз меньших, чем фенолы без метоксильных групп. Известно, что действие простых фенолов как ингибиторов зависит от коэффициента распределения этих веществ между октанолом и водой [10]. Более высокая эффективность ингибирования соединениями (IV), (XIII) и 2,3-диметоксифенолом по сравнению с действием фенола, имеющего равный с метоксипроизвод-

ными коэффициент распределения, говорит в пользу участия метоксильных групп в связывании ингибиторов с сукцинатоксидазой. Эти данные совпадают с результатами работы Ленац и др. [2] по реконструкции дефицитных по CoQ митохондрий. Аналоги CoQ, лишенные хотя бы одной метоксильной группы, не восстанавливают активность сукцинатоксидазы.

Аномально низкая эффективность 1,2-диметоксибензола указывает на прямое участие гидроксильной группы фенольных соединений (IV), (VI), (XI), (XIII) и 2,3-диметоксифенола во взаимодействии с ферментом.

Таким образом, на основании полученных данных можно полагать, что связь между синтезированными ингибиторами и сукцинатоксидазой осуществляется за счет двух метоксильных и одной фенольной групп и, следовательно, с ферментом связывается восстановленная форма коэнзима Q, содержащая фенольную группу.

Согласно табл. 2, окисление сукцината подавляется исследуемыми веществами несколько более эффективно, чем окисление глутамата. Более сильное подавление сукцинатоксидазы свидетельствует о связывании ингибиторов преимущественно с сукцинатдегидрогеназой. Этот вывод подтверждается при независимом определении сукцинатдегидрогеназной активности: специфическая для сукцинатдегидрогеназы реакция восстановления феррицианида (в присутствии антимицина А) подавляется на 50% соединением (XI) в концентрации 4,5 мМ, соизмеримой с концентрацией ингибитора, в которой он подавляет сукцинатоксидазу. Наблюдая за уровнем восстановленности цитохромов, также можно локализовать место действия ингибитора. Поскольку цитохромы получают электроны от дегидрогеназ, при подавлении сукцинатдегидрогеназы должно наблюдаться окисление цитохромов. Действительно, цитохром *b* окислялся на 30% при добавлении к митохондриям 8 мМ вещества (XIII) (в присутствии $1,5 \cdot 10^{-4}$ М KCN).

Полученные данные говорят о том, что местом связывания изученных структурных аналогов CoQ и, значит, восстановленной формы коэнзима Q является сукцинатдегидрогеназа. Этот вывод согласуется с ранее высказанными заключениями ряда авторов [12, 13].

Экспериментальная часть

Спектры ЯМР сняты в CCl_4 и C_6D_6 на приборе фирмы Hitachi (Perkin — Elmer, 60 МГц); в качестве внутреннего стандарта использовался тетраметилсилан. Концентрация исследуемых растворов 3% моль/моль; точность измерения химических сдвигов $\pm 0,01$ м. д., констант спин-спинового взаимодействия $\pm 0,1$ Гц. Для отнесения каждого из двух сигналов метоксигрупп в C_6D_6 к определенному сигналу в CCl_4 изучено последовательное смещение этих сигналов при различных концентрациях C_6D_6 в CCl_4 . УФ (C_2H_5OH)- и ИК (CCl_4)-спектры сняты на соответствующих спектрофотометрах Spесord (Carl Zeiss, ГДР). Масс-спектры получены на приборе фирмы Jeol JMS-01SG2 с компьютерной системой обработки данных, температура напуска образца 140° , ионизирующее напряжение 75 эВ. Характер фрагментации молекулярных ионов эфиров гексагидрорубихинола-4 (VI), (X) и (XI) одинаков и сопоставим с известными данными по фрагментации молекулы убихинолов [14]. Для колоночной хроматографии применен силикагель L (40/100 м, Chemapol, ЧССР), элюцию проводили смесью хлороформ — эфир (100 : 1).

Митохондрии печени крысы выделены дифференциальным центрифугированием в 0,3 М растворе сахарозы, содержащем этилендиаминтетраацетат (0,25 мМ). Субмитохондриальные частицы из сердца быка получены по методу Хансена и Смита [15].

Скорость окисления сукцината и глутамата + малата митохондриями определяли по изменению концентрации кислорода при помощи кларков-

ского платинового электрода на полярографе LP-60. При измерении сукцинатдегидрогеназной активности в качестве искусственного акцептора электронов использовали феррицианид. Изменение концентрации феррицианида регистрировали на двулучевом спектрофотометре Cary-15 по изменению оптической плотности раствора при 410 нм. Наблюдение за стационарным уровнем восстановленности цитохромов субмитохондриальных частиц вели на двулучевом спектрофотометре типа Chance, сконструированном в Междфакультетской лаборатории биоорганической химии МГУ.

Среда инкубации при измерении сукцинатаксидазной активности содержала 0,2 М сахарозу, 0,04 М 2-оксиэтилпиперазин-N-2-этансульфоновою кислоту, 0,01 М KH_2PO_4 , 0,002 М MgCl_2 , $2 \cdot 10^{-4}$ М этилендиаминтетраацетат, $5 \cdot 10^{-3}$ М сукцинат, $5 \cdot 10^{-7}$ М *m*-хлорфенилгидразон карбонилцианида (рН 7,5) и митохондрии печени крысы с концентрацией белка 3 мг/мл. При измерении сукцинатдегидрогеназной активности в среде дополнительно присутствовало 3 мМ $\text{K}_3\text{Fe}(\text{CN})_6^{3+}$ и 0,66 мкг/мл антимицина А. Субмитохондриальные частицы активированы малонатом, концентрация белка 0,07 мг/мл.

Коэффициенты распределения октанол/вода рассчитаны по методу Халча [16].

1- и 4-Ацетаты убихинола-0 (II) и (VIII). К 0,6 г убихинола-0 (I) в 1 мл безводного бензола и 3 мл безводного пиридина при -10° прибавляли по каплям 0,33 мл уксусного ангидрида. Перемешивали 6 ч при -10° , выливали в ледяную воду и экстрагировали эфиром. Эфирный экстракт промывали охлажденной до 0° 5% H_2SO_4 , сушили MgSO_4 и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем. Выход 1-ацетата убихинола-0 (II) 0,31 г (42,1%). УФ: $\lambda_{\text{макс}}$ 278 нм. ИК, cm^{-1} : 3520 (OH), 1775 (CH_3COO). ЯМР, CCl_4 , δ , м. д.: 2,17 (CH_3 , с), 2,22 (CH_3COO , с), 3,77 и 3,89 (OCH_3 , с), 6,43 ($\text{H}_{\text{аром}}$, к, *J* 1,7 Гц). ЯМР, C_6D_6 , δ , м. д.: 2,16 (CH_3 , с), 1,99 (CH_3COO , с), 3,46 и 3,65 (OCH_3 , с), 6,48 ($\text{H}_{\text{аром}}$, к, *J* 1,7 Гц). Выход 4-ацетата убихинола-0 (VIII) 0,18 г (24,4%). УФ: $\lambda_{\text{макс}}$ 278 нм. ИК, cm^{-1} : 3510 (OH), 1775 (CH_3COO). ЯМР, CCl_4 , δ , м. д.: 2,04 (CH_3 , с), 2,23 (CH_3COO , с), 3,76 и 3,83 (OCH_3 , с), 6,43 ($\text{H}_{\text{аром}}$, к, *J* 1,7 Гц). ЯМР, C_6D_6 , δ , м. д.: 1,92 (CH_3 , с), 1,96 (CH_3COO , с), 3,46 и 3,67 (OCH_3 , с), 6,59 ($\text{H}_{\text{аром}}$, к, *J* 1,7 Гц).

Из 16,4 г диацетата убихинола-0 (VII) [17] с 32,3 мл 10% раствора КОН в условиях гидролиза, описанных в [17], получали 10,8 г (86,53%) 4-ацетата убихинола-0 (VIII) и 0,2 г (1,6%) 1-ацетата убихинола-0 (II).

При гидролизе 0,5 г диацетата (VII), 0,2 мл 25% раствора NH_3 в течение 4,5 ч в тех же условиях возвращали 0,3 г непрореагировавшего диэфира (VII) и получали 108 мг 4-ацетата (VIII) (23,8% на введенный и 59,5% на прореагировавший) и 24 мг изомера (II) (5,7% на введенный и 14,2% на прореагировавший) с физико-химическими константами, приведенными выше.

1-Уксуснокислый 4-метиловый эфир убихинола-0 (III). 0,36 г 1-ацетата убихинола-0 (II) в 8 мл безводного ацетона нагревали в запаянной ампуле при 70° с 0,59 мл иодистого метила и 0,66 г безводного поташа в течение 5 сут. После фильтрования и упаривания остаток хроматографировали на колонке с силикагелем. Выход диэфира (III) 0,26 г (68,4%). УФ: $\lambda_{\text{макс}}$ 278 нм. ИК: 1780 cm^{-1} (CH_3COO). ЯМР, δ , м. д.: 2,16 (CH_3 , с), 2,21 (CH_3COO , с), 3,77; 3,80 и 3,84 (OCH_3 , с), 6,46 ($\text{H}_{\text{аром}}$, к, *J* 1,7 Гц). Найдено, %: С 59,50; 59,79; Н 6,83; 6,87. $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_5$. Вычислено, %: С 59,99, Н 6,71.

4-Метиловый эфир убихинола-0 (IV). К раствору 0,34 г уксуснокислого 4-метилового эфира убихинола-0 (III) в 3,5 мл этанола при 0° в токе азота приливали 0,75 мл 10% раствора NaOH. Перемешивали 1 ч при $5-10^\circ$, прибавляли 5 мл ледяной воды, подкисляли разбавленной HCl (1 : 1) до рН 5 и экстрагировали эфиром. Эфирный раствор сушили MgSO_4 и упарива-

ли. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем. Выход моноэфира (IV) 0,24 г (85,7%). УФ: $\lambda_{\text{макс}}$ 284 нм. ИК: 3520 см^{-1} (ОН). ЯМР, δ , м. д.: 2,13 (CH_3 , с), 3,72; 3,84 и 3,85 (OCH_3 , с), 6,36 ($\text{H}_{\text{аром}}$, к, J 1,7 Гц).

4-Метилловый эфир гексагидробиухинола-4 (VI). К раствору 0,24 г 4-метилового эфира биухинола-0 (IV) и 0,35 г изофитола (V) в 7 мл безводного бензола в токе азота добавляли при 5° 0,15 мл эфирата трехфтористого бора. Перемешивали 45 мин при 5° , выливали в ледяную воду и экстрагировали эфиром. После высушивания MgSO_4 и упаривания растворителя остаток хроматографировали на колонке с силикагелем. Элюцию вели смесью *n*-гексан — этилацетат (100 : 1), постепенно меняя соотношение до 25 : 1. В ходе хроматографии возвращали 0,05 г не вошедшего в реакцию 4-метилового эфира биухинола-0 (IV). Выход соединения (VI) 0,30 г (65,6%). УФ: $\lambda_{\text{макс}}$ 285 нм. ИК: 3510 см^{-1} (ОН). ЯМР, δ , м. д.: 1,63 (CH_3 *цис*, с), 1,71 (CH_3 *транс*, с), 2,08 (CH_3 ядра, с), 3,24 (CH_2 при ядре, д, J 6,7 Гц), 3,68; 3,81 и 3,88 (OCH_3 , с), 5,02 ($-\text{CH}=\text{}$, т, J 6,7 Гц). Масс-спектр, m/e , 476 M^+ : 211, 71, 69, 57, 55, 43. Найдено, %: С 75,50, Н 11,01. $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}_4$. Вычислено, %: С 75,58, Н 11,00.

1-Метилловый 4-уксуснокислый эфир гексагидробиухинола-4 (X). 0,31 г 4-ацетата гексагидробиухинола-4 (IX), полученного из ацетата (VIII) по методу, описанному в работе [17], в 2 мл безводного ацетона нагревали 2 ч при кипении в токе азота с 0,23 мл диметилсульфата и 0,17 г безводного поташа. Реакционную массу выливали в ледяную воду, добавляли охлажденный до 0° 25% раствор аммиака до pH 7—8 и экстрагировали эфиром. Эфирный раствор сушили MgSO_4 и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем. Продукт элюировали смесью *n*-гексана и эфира (5 : 1). Выход вещества (X) 0,2 г (62,7%). УФ: $\lambda_{\text{макс}}$ 276 нм. ИК: 1775 см^{-1} (CH_3COO). ЯМР, δ , м. д.: 1,66 (CH_3 *цис*, с), 1,72 (CH_3 *транс*, с), 1,97 (CH_3 ядра, с), 2,23 (CH_3COO , с), 3,26 (CH_2 при ядре, д, J 6,4 Гц), 3,77; 3,83 (OCH_3 , с), 4,99 ($-\text{CH}=\text{}$, т, J 6,4 Гц). Масс-спектр, m/e , 518 M^+ : 476, 253, 211, 71, 69, 57, 55, 43. Найдено, %: С 73,82; 73,86; Н 10,13; 10,18. $\text{C}_{32}\text{H}_{54}\text{O}_5$. Вычислено, %: С 74,08, Н 10,49.

1-Метилловый эфир гексагидробиухинола-4 (XI). К раствору 0,07 г 1-метилового 4-уксуснокислого эфира гексагидробиухинола-4 (X) в 1 мл абс. метанола добавляли в токе азота 0,7 мл 1 н. раствора едкого кали в абс. метаноле. Перемешивали 3 ч, выливали в ледяную воду, подкисляли до pH 5 разбавленной HCl (1 : 1) и экстрагировали эфиром. После высушивания над MgSO_4 и удаления растворителя остаток хроматографировали на колонке с силикагелем, как описано для соединения (VI). Выход эфира (XI) 0,05 г (78,1%). УФ: $\lambda_{\text{макс}}$ 285 нм. ИК: 3510 см^{-1} (ОН). ЯМР, δ , м. д.: 1,65 (CH_3 *цис*, с), 1,73 (CH_3 *транс*, с), 2,07 (CH_3 ядра, с), 3,24 (CH_2 при ядре, д, J 6,4 Гц), 3,70; 3,82 и 3,89 (OCH_3 , с), 5,00 ($-\text{CH}=\text{}$, т, J 6,4 Гц). Масс-спектр, m/e , 476 M^+ : 211, 71, 69, 57, 55, 43. Найдено, %: С 75,53, Н 10,91. $\text{C}_{30}\text{H}_{52}\text{O}_4$. Вычислено, %: С 75,58, Н 11,00.

1-Метилловый 4-уксуснокислый эфир биухинола-0 (XII). Из 0,29 г 4-ацетата биухинола-0 (VIII) в условиях синтеза соединения (III) получили 0,25 г (81,2%) диефира (XII). УФ: $\lambda_{\text{макс}}$ 278 нм. ИК: 1775 см^{-1} (CH_3COO). ЯМР, δ , м. д.: 2,06 (CH_3 , с), 2,23 (CH_3COO , с), 3,78 (2OCH_3 , с), 6,36 ($\text{H}_{\text{аром}}$, к, J 1,7 Гц). Найдено, %: С 59,73; 59,75; Н 6,68; 6,71. $\text{C}_{12}\text{H}_{16}\text{O}_5$. Вычислено, %: С 59,99, Н 6,71.

1-Метилловый эфир биухинола-0 (XIII). К 0,25 г эфира биухинола-0 (XII) в 7 мл этанола добавляли 0,75 мл 10% раствора NaOH , перемешивали 2 ч, разбавляли ледяной водой, подкисляли до pH 5 разбавленной (1 : 1) HCl и экстрагировали эфиром. Эфирный раствор сушили MgSO_4 и упаривали. Остаток хроматографировали на колонке с силикагелем. Выход соединения (XIII) 0,11 г (53,4%). УФ: $\lambda_{\text{макс}}$ 286 нм. ИК: 3520 см^{-1} (ОН). ЯМР, δ , м. д.: 2,14 (CH_3 , с), 3,73; 3,78; 3,90 (OCH_3 , с), 6,31 ($\text{H}_{\text{аром}}$, к, J 1,7 Гц).

ЛИТЕРАТУРА

1. Kröger A., Klingenberg M. (1967) in Current topics in bioenergetics (D. Sanadi, ed.), 2, pp. 151—193, Acad. Press, N. Y.—London.
2. Lenaz G., Daves G. D., Jr., Folkers K. (1968) Arch. Biochem. and Biophys., 123, 539—550.
3. Pardini R. S., Catlin J. C., Heidker J. C., Folkers K. (1972) J. Med. Chem., 15, 195—197.
4. Folkers K. (1974) Cancer Chemother. Rep., 4, 19—25.
5. Jeng M., Hall C., Crane F., Takahashi H., Tamura S., Folkers K. (1968) Biochemistry, 7, 1311—1322.
6. Ronayne J., Williams D. H. (1969) Annual Rev. NMR Spectr., 2, 83—124.
7. Sugihara H., Watanabe M., Kawamatsu Y., Morimoto H. (1972) J. Liebigs Ann. Chem., 763, 109—120.
8. Волкова О. И., Обольникова Е. А., Мочалова А. И., Филиппова Т. М., Кустанович И. М., Самохвалов Г. И. (1973) Ж. общ. химии, 43, 2054—2064.
9. Wan Y.-P., Williams R. H., Folkers K., Leung K. H., Racker E. (1975) Biochem. and Biophys. Res. Commun., 63, 11—15.
10. Ратникова Л. А., Ягужинский Л. С., Красинская Н. П. (1973) в сб. Митохондрии, с. 50—53, «Наука», М.
11. Bredereck H., Hennig I., Rau W. (1953) Chem. Ber., 83, 1085—1089.
12. Singer Th., Kearney E. B., Gutman M. (1972) in Biochemical Regulatory Mechanisms in Eukaryotic Cells (Kun Ern., Grisollia S., eds.), pp. 271—301, Interscience, N. Y.
13. Ingledew W. J., Ohnishi T. (1975) FEBS Lett., 54, 167—171.
14. Maraca R. F., Whittick J. S., Daves G. D., Jr., Friis P., Folkers K. (1967) J. Amer. Chem. Soc., 89, 1505—1508.
15. Hanscu M., Smith A. (1964) Biochim. et biophys. acta, 81, 214—222.
16. Leo A., Hansch C., Elkins D. (1971) Chem. Revs. 71, 525—616.
17. Обольникова Е. А., Кожухова А. И., Беккер А. Р., Филиппова Т. М., Самохвалов Г. И. (1976) Ж. общ. химии, 46, 1372—1378.

Поступила в редакцию
21.I.1976

SYNTHESIS OF UBIQUINOL MONOETHERS AND THEIR INTERACTION WITH MITOCHONDRIAL SUCCINATE DEHYDROGENASE

KOZHUKHOVA A. I., KOSTYRKO V. A., BEKKER A. R.,
OBOL'NIKOVA E. A., YAGUZHINSKY L. S., FILIPPOVA T. M.,
SAMOKHVALOV G. I.

*All-Union Institute for Vitamin Research, Moscow; Laboratory
of Bioorganic Chemistry, M. V. Lomonosov State University, Moscow*

The isomeric ubiquinol monoethyl ethers bearing at C₍₆₎ position a phytol residue or hydrogen atom have been synthesized. In 2-10 mM concentration the above compounds inhibit succinate and glutamate oxidation by mitochondria. The inhibition of succinate oxidase by the hexahydroubiquinol-4 monoethers depends on the disposition of the hydroxyl group and isoprenoid chain in the inhibitor. Phenol compounds with two methoxyls are shown to inhibit succinate oxidase more effectively than those without methoxyls or 1,2-dimethoxybenzene. With succinate dehydrogenase, information is obtained on the site of action of the inhibitors tested. It is suggested that in succinate dehydrogenase a region exists where CoQ is attached, the hydroxyl and methoxyls of the latter being involved in binding.