



**ФЕДЕРАЛЬНАЯ СЛУЖБА
ПО ИНТЕЛЛЕКТУАЛЬНОЙ СОБСТВЕННОСТИ**

(12) ОПИСАНИЕ ИЗОБРЕТЕНИЯ К ПАТЕНТУ

(21)(22) Заявка: 2015121442/04, 04.06.2015

(24) Дата начала отсчета срока действия патента:
04.06.2015

Приоритет(ы):

(22) Дата подачи заявки: 04.06.2015

(45) Опубликовано: 10.04.2016 Бюл. № 10

(56) Список документов, цитированных в отчете о поиске: RU 2352554C1, 20.04.2009. SU 1508535A1, 27.08.1996. Якубовская А.Я. и др. Спинозарин и этилспинозарин-пигменты морского ежа *Scaphechinus mirabilis*. Изв. РАН. Сер. хим., 2007, 4, 788-791. JP 61145144A, 02.07.1986.

Адрес для переписки:

690022, г. Владивосток, пр-кт 100 лет Владивостоку, 159, ФГБУ науки Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г.Б. Елякова ДВО РАН, зав. патентным отделом Стадниченко Н.И.

(72) Автор(ы):

**Мищенко Наталья Петровна (RU),
Стоник Валентин Аронович (RU),
Федореев Сергей Александрович (RU),
Васильева Елена Андреевна (RU)**

(73) Патентообладатель(и):

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

(54) СПОСОБ ПОЛУЧЕНИЯ ПЕНТАГИДРОКСИЭТИЛНАФТОХИНОНА (ЭХИНОХРОМА А)

(57) Реферат:

Изобретение относится к способу получения пентагидроксиэтилнафтохинона (эхинохром А), являющегося активной субстанцией для получения лекарственных средств: «Гистохром®, раствор для инъекций 0,2 мг/мл» и «Гистохром®, раствор для внутривенного введения 10 мг/мл» и производства биологически активных добавок к пище, из морских ежей. Способ заключается в том, что свежельовленные или дефростированные морские ежи экстрагируют 96% этиловым спиртом с добавлением минеральных кислот или уксусной кислоты в соотношении сырье:экстрагент 1:(5-10) в течение 6-10 ч при комнатной температуре, затем полученный экстракт концентрируют под вакуумом и дважды экстрагируют хлороформом при объемном соотношении хлороформ:вода 1:(1-2); далее хлороформные экстракты объединяют

и концентрируют под вакуумом до полного удаления растворителя, затем наносят в виде сухой загрузки на хроматографическую колонку, заполненную сорбентом Полихром-1, далее колонку промывают дистиллированной водой и элюируют продукт 25-35% раствором этилового спирта; далее элюат концентрируют под вакуумом и повторно хроматографируют на колонке, заполненной сорбентом Toyopearl HW-40 или Toyopearl HW-50, в 40% этиловом спирте с добавлением 0,1% муравьиной кислоты, полученный элюат концентрируют досуха, целевой продукт кристаллизуют из этилового спирта или ацетона, сушат и сублимируют. Предлагаемый способ позволяет получить целевой продукт с высоким выходом и высокой степенью чистоты. 1 з.п. ф-лы, 3 ил., 7 пр.



FEDERAL SERVICE
FOR INTELLECTUAL PROPERTY

(51) Int. Cl.
C07C 46/00 (2006.01)
C07C 50/32 (2006.01)

(12) **ABSTRACT OF INVENTION**

(21)(22) Application: 2015121442/04, 04.06.2015

(24) Effective date for property rights:
04.06.2015

Priority:

(22) Date of filing: 04.06.2015

(45) Date of publication: 10.04.2016 Bull. № 10

Mail address:

690022, g. Vladivostok, pr-kt 100 let Vladivostoku,
159, FGBU nauki Tikhookeanskij institut
bioorganicheskoj khimii im. G.B. Eljakova DVO
RAN, zav. patentnym otdelom Stadnichenko N.I.

(72) Inventor(s):

Mishchenko Natalja Petrovna (RU),
Stonik Valentin Aronovich (RU),
Fedoreev Sergej Aleksandrovich (RU),
Vasileva Elena Andreevna (RU)

(73) Proprietor(s):

Federalnoe gosudarstvennoe bjudzhetnoe
uchrezhdenie nauki Tikhookeanskij institut
bioorganicheskoj khimii im. G.B. Eljakova
Dalnevostochnogo otdelenija Rossijskoj
akademii nauk (TIBOKH DVO RAN) (RU)

(54) **METHOD OF PRODUCING PENTAHYDROXYETHYLNAPHTHOQUINONE (ECHINOCHROME A)**

(57) Abstract:

FIELD: chemistry; pharmaceuticals.

SUBSTANCE: invention relates to a method for producing pentahydroxyethylnaphthoquinone (echinochrome A), which is active substance for manufacture of medicaments: HistoChrome® solution for injections of 0.2 mg/ml and HistoChrome® solution for intravenous administration of 10 mg/ml and for production of biologically active food additives, from sea urchin spawn. Method consists in that freshly caught or defrosted sea urchins are extracted with 96 % ethanol with addition of a mineral acid or acetic acid in ratio of raw materials: extractant of 1:(5-10) for 6-10 hours at room temperature, then resulting extract is concentrated under vacuum and extracted twice with chloroform in a volume ratio chloroform: water of 1:(1-2); further

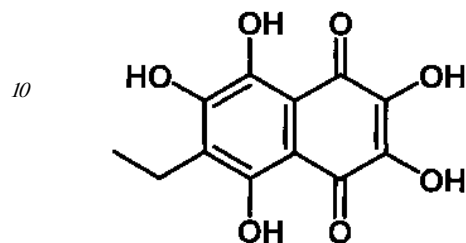
chloroform extracts are combined and concentrated under vacuum until complete removal of solvent, and then applied as a dry charge to chromatographic column packed with sorbent polychrome-1, column is washed further with distilled water and product is eluted with 25-35 % ethyl alcohol solution; further eluate was concentrated in a vacuum and re-chromatographed on a column packed with sorbent Toyopearl HW-40 or Toyopearl HW-50, 40 % ethanol with 0.1 % formic acid, resulting eluate is concentrated to dryness, desired product is crystallised from ethyl alcohol or acetone, dried and sublimated.

EFFECT: proposed method allows to produce end product with high output and high degree of purity.

2 cl, 3 dwg, 7 ex

Изобретение относится к фармацевтической промышленности и касается способа получения эхинохрома А из морских ежей.

Эхинохром А внесен в Государственный реестр лекарственных средств РФ (Регистрационное удостоверение Р N 002363/01-2003), как пентагидроксиэтилнафтохинон, в качестве активной субстанции для получения лекарственных средств: «Гистохром®, раствор для инъекций 0,2 мг/мл», «Гистохром®, раствор для внутривенного введения 10 мг/мл».



15 Пентагидроксиэтилнафтохинон

Известен способ получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этилнафтохинона (эхинохрома А), включающий обработку сырья соляной кислотой, экстракцию целевого продукта из морских ежей серным эфиром, отделение его в виде водорастворимых натриевых производных, хроматографическую очистку на силикагеле и дробную
20 перекристаллизацию [Mathieson J.W., Thomson R.H. J. Chem. Soc. (C), 1971, №1, p. 153-160]. Выход целевого продукта составляет 0,01% от веса исходного сырья.

Известен способ получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона путем экстракции сырья (плоских морских ежей) 4-8% раствором 30% серной кислоты в этиловом спирте, последующей жидкостной экстракции хлороформом в смеси с водой
25 в объемном соотношении 1:1, концентрирования экстракта, последующей перекристаллизации целевого продукта из смеси растворителей 1,4-диоксан - гексан при объемном соотношении 5:1, промывки полученного кристаллосольвата гексаном и сушки в вакуумном сушильном шкафу [SU 1508535 A3, 27.08.1996]. Выход целевого продукта составляет 0,05-0,06% от веса исходного сырья.

30 Недостатками известных способов получения эхинохрома А являются низкий выход целевого продукта, сложность и длительность процесса препаративной хроматографии на силикагеле и использование взрывоопасного серного эфира - в первом способе, а также использование высокотоксичного, взрывоопасного, из-за возможного накопления перекисных соединений, 1,4-диоксана, во втором способе.

35 Известен способ получения 2,3,5,7,8-пентагидрокси-6-этил-1,4-нафтохинона (эхинохрома А), включающий последовательную обработку свежельвовленных или дефростированных морских ежей водой, органическими растворителями (например, спиртом этиловым), экстракцию целевого продукта из морских ежей раствором неорганической кислоты в органическом растворителе (например, соляной кислоты в
40 этиловом спирте), концентрирование полученного экстракта, жидкостную экстракцию кислого раствора хлороформом в соотношении хлороформ - водная фаза 1:1 по объему, концентрирование хлороформного экстракта досуха, с кристаллизацией целевого продукта из диоксана, сушкой полученного кристаллосольвата и последующей возгонкой при 220°C с получением эхинохрома [RU 2283298 C1, 10.09.2006]. Выход
45 целевого продукта составляет 0,028% от веса исходного сырья.

Основным недостатком получения эхинохрома А этим способом является низкий выход целевого продукта, обусловленный многостадийностью процесса выделения целевого вещества. При этом наибольшие потери эхинохрома А происходят за счет

его частичного осмоления при разрушения кристаллосольвата с 1,4-диоксаном в процессе сублимации, которая осуществляется при высоких температурах. В то же время высокая температура (220°C) является необходимым условием процесса, так как эхинохром А образует прочный кристаллический комплекс с 1,4-диоксаном за счет образования меж- и внутримолекулярных водородных связей между протонами гидроксильных групп эхинохрома А и кислородными атомами молекулы 1,4-диоксана. [Герасименко А.В., Федореев С.А., Мищенко Н.П. Молекулярная и кристаллическая структура комплекса эхинохрома А с диоксаном // Кристаллография. 2006. Т. 51, №1. С. 48-52]. Кроме того, 1,4-диоксан токсичен, а присутствие его в фармацевтической субстанции для получения лекарственных средств недопустимо, что требует дополнительной очистки эхинохрома А и контроля содержания в нем 1,4-диоксана.

Наиболее близким к заявляемому способу по технической сущности является способ получения эхинохрома А, характеризующийся тем, что в качестве сырья используют консервированных плоских морских ежей, которых отделяют от консерванта декантацией, образовавшийся при этом раствор фильтруют и наносят на хроматографическую колонку, заполненную обезвоженным хитозаном в ОН⁻ форме. Затем колонку с адсорбированным на нем эхинохромом А промывают 96% этиловым спиртом, а полученных в результате отделения консерванта плоских морских ежей заливают 96% этиловым спиртом в соотношении сырье : экстрагент (1:1,0-1,2) с добавлением неорганической кислоты в соотношении этиловый спирт : кислота (100:1,0-1,5) и осуществляют экстракцию в течение 20-24 ч при комнатной температуре до полного извлечения пигментов. Полученный экстракт пропускают через ту же колонку с обезвоженным хитозаном в ОН⁻ форме, далее хитозан с адсорбированным на нем эхинохромом А промывают последовательно 30-40% водным раствором этилового спирта и 96% этиловым спиртом, затем элюируют эхинохром А с колонки 96% этиловым спиртом с добавлением соляной кислоты (рН 2-3). Полученный кислый элюат нейтрализуют пищевой содой до рН 4-5, фильтруют и концентрируют до полного удаления растворителя, далее сухой остаток растворяют в хлороформе или ацетоне, фильтруют и снова упаривают, остаток кристаллизуют из этилового спирта и высушивают [RU 2352554 С1, 20.04.2009]. Получают эхинохром А с выходом 0,073-0,075% от веса исходного сырья, степень чистоты которого удовлетворяет требованиям производства биологически активных добавок к пище.

Однако способ-прототип не позволяет получить целевой продукт, степень чистоты которого соответствовала бы требованиям Государственной фармакопеи Российской Федерации. Известно, что кроме эхинохрома А в экстрактах плоского морского ежа *Scaphechinus mirabilis* присутствуют ряд минорных полигидроксиафтохинонов [Mischenko N.P., Fedoreyev S.A. et. al. Echinamines A and B, first animated hydroxynaphthazarins from the sea urchin *Scaphechinus mirabilis* // J. Nat. Prod., 2005. V. 68. P. 1390-1393; Mishchenko N.P. et.al. Mirabiquinone, a new asymmetrical binaphthoquinone from the sea urchin *Scaphechinus mirabilis* // Tetrahedron Letters. - 2014. - Vol. 55. P. 5967-5969]. Эти примеси не удается отделить от основного продукта на колонке, заполненной хитозаном, что является основным недостатком способа-прототипа.

Задачей изобретения является разработка способа, обеспечивающего получение эхинохрома А, степень чистоты которого соответствовала бы требованиям, предъявляемым Государственной фармакопеей Российской Федерации к субстанции для получения лекарственных средств серии Гистохром[®], использующихся для лечения инфаркта миокарда [RU 2137472 С1, 20.09.1999] и ряда глазных болезней [RU 2134107

C1, 10.08.1999].

Задача решена тем, что в предлагаемом способе получения пентагидроксиэтилнафтохинона (эхинохрома А) из морских ежей, который включает экстракцию и хроматографическую очистку целевого продукта, согласно изобретению 5 используют свежельовленные или дефростированные морские ежи, которые экстрагируют 96% этиловым спиртом с добавлением минеральных кислот или уксусной кислоты в соотношении сырье : экстрагент 1:(5-10) в течение 6-10 ч при комнатной температуре. Полученный экстракт концентрируют под вакуумом в 10-20 раз и дважды 10 экстрагируют водный концентрат хлороформом при комнатной температуре и объемном соотношении хлороформ : вода 1:(1-2). Хлороформные яркоокрашенные в красный цвет экстракты объединяют, отмывают водой, затем концентрируют под вакуумом до полного удаления растворителя, а полученный остаток вносят в виде сухой загрузки на хроматографическую колонку, заполненную гидрофобным сорбентом Полихром- 1; далее колонку промывают дистиллированной водой для отделения солей минеральных 15 и органических кислот, белков, сахаров и других полярных водорастворимых соединений, а затем элюируют продукт 25-35% раствором этилового спирта в воде. Полученный элюат концентрируют под вакуумом и повторно хроматографируют на колонке, заполненной сорбентом Toyopearl HW-40 или Toyopearl HW-50 в 40% этиловом спирте с добавлением 0,1% муравьиной кислоты, а элюат концентрируют в вакууме 20 досуха. Полученный в виде мелкого оранжево-красного порошка эхинохром А кристаллизуют из этилового спирта или ацетона, высушивают под вакуумом и сублимируют.

В заявляемом способе в качестве исходного биологического материала используют морские ежи, в которых эхинохром А является основным хиноидным пигментом, с 25 содержанием не менее 60% от суммы всех пигментов, например *Astropyga radiata*, *Diadema savignyi*, *Diadema setosum*, *Echinotrix diadema*, *Echinotrix calamaris*, *Scaphechinus mirabilis*. Запасы морских ежей *Scaphechinus mirabilis* в Японском море и *Astropyga radiata* (Leske), *Diadema savignyi* (Audouin), *Diadema setosum* (Leske), *Echinotrix diadema* (Linnaeus), *Echinotrix calamaris* (Pallas) в Южно-Китайском море исчисляются тысячами тонн, что обеспечивает 30 сырьевую базу для производства пентагидроксиэтилнафтохинона для нужд фармацевтической промышленности.

Выход эхинохрома А составляет 0,18% от веса исходного сырья, если в качестве него используется морской еж *Astropyga radiata*. В случае переработки морских ежей *Diadema savignyi*, *Diadema setosum*, *Echinotrix diadema*, *Echinotrix calamaris* и *Scaphechinus mirabilis* 35 заявляемым способом выходы эхинохрома А составляют 0,06%, 0,03%, 0,05%, 0,05% и 0,09% соответственно.

Технический результат, обеспечиваемый заявляемым способом, заключается в повышении степени очистки целевого продукта и расширении сырьевой базы для его получения. Изобретение позволяет получать эхинохром А, свободный от примесей 40 родственных минорных полигидроксиафтохинонов, других соединений и следов растворителей. Степень его чистоты составляет 98%. Эхинохром А, получаемый заявляемым способом, соответствует требованиям фармакопеи РФ для лекарственного средства Р N 002363/01-2003 (фиг. 1-3). Этот результат достигается за счет отличного от способа-прототипа варианта хроматографической очистки целевого продукта, а 45 также в использовании сублимирования конечного продукта.

Предлагаемый способ позволяет увеличить выход эхинохрома А при выделении из *Astropyga radiata* - в 2 раза, а из *Scaphechinus mirabilis* - не менее, чем на 20% (от 0,75 до 0,090% от веса используемого биологического сырья).

Анализ экстрактов из морских ежей и образцов пентагидроксиэтилнафтохинона (эхинохром А), полученного заявляемым способом, осуществляли на хромато-масс-спектрометре Shimadzu-2020 (Shimadzu Corporation, Kyoto, Japan) с диодно-матричным и масс-спектрометрическим детекторами и хроматографической колонкой Discovery HS C₁₈ (150×2,1 мм, размер частиц 3 мкм). Элюирование веществ проводили в бинарной системе растворителей 0,5% уксусная кислота (раствор А) и ацетонитрил, содержащий 0,5% уксусной кислоты (раствор Б), в следующем градиенте: 10-40% Б (6 мин), 40-100% Б (11 мин), 100% Б (12 мин), 100-10% Б (13 мин) и 10% Б (17 мин). Скорость потока растворителей 0,2 мл/мин. Спектры регистрировали на диодно-матричном детекторе при λ 254 нм. Масс-спектры получали в режиме электрораспылительной ионизации при атмосферном давлении. Регистрацию положительных (1,30 кВ) и отрицательных (1,50 кВ) ионов проводили в диапазоне m/z 100-800.

На фиг. 1 представлен ВЭЖХ профиль полученного эхинохрома А, время удерживания которого (ВУ) на хроматографической колонке соответствует 10,55 мин;

На фиг. 2 представлен УФ-спектр эхинохрома А (пик с ВУ 10,55 мин);

На фиг. 3 представлены масс-спектры эхинохрома А, на которых в режиме электрораспылительной ионизации обнаружены пики псевдомолекулярных ионов с m/z 265 (M-H)⁻ и 267 (M+H)⁺, соответствующие структуре эхинохрома А.

Изобретение иллюстрируется следующими примерами.

Пример 1.

Сырье - свежельовленный морской еж *Astropyga radiata* (1 кг) заливают 96% этиловым спиртом (5 л) с добавлением 100 мл уксусной кислоты (рН 3,6). Экстракцию осуществляют в течение 10 ч. Полученный экстракт концентрируют в 10 раз и двукратно экстрагируют хлороформом (соотношение хлороформ:водный слой 1:1) при комнатной температуре. Пигментированные хлороформные экстракты объединяют, отмывают водой, концентрируют до полного удаления растворителя (получают 8,5 г сухого остатка) и наносят в виде сухой загрузки на хроматографическую колонку, заполненную сорбентом Полихром-1. Далее колонку промывают дистиллированной водой для отделения водорастворимых балластных соединений, затем элюируют продукт 25-35% раствором этилового спирта в воде. Полученный элюат концентрируют под вакуумом и повторно хроматографируют в 40% этиловом спирте с добавлением 0,1% муравьиной кислоты на колонке, заполненной сорбентом Toyopearl HW-50; затем окрашенный в красный цвет элюат упаривают в вакууме досуха. Полученный в виде красного порошка эхинохром А кристаллизуют из этилового спирта, сушат, затем сублимируют при температуре 130-140°C в вакууме при остаточном давлении 2-4 мм рт.ст. Выход целевого продукта 1,8 г или 0,18% от веса исходного биологического сырья.

Пример 2.

Сырье - дефростированный морской еж *Diadema savignyi* (1 кг) заливают 96% этиловым спиртом (5 л) с добавлением 50 мл 10% серной кислоты (рН 1,8-2,0), при этом экстракцию осуществляют в течение 6 час. Полученный экстракт концентрируют в 10 раз и двукратно экстрагируют полученную водную суспензию хлороформом (хлороформ : вода 1:2) при комнатной температуре. Хлороформные экстракты пигмента объединяют, отмывают водой, концентрируют в вакууме до полного удаления растворителя (выход 6,4 г). Хроматографическую очистку и выделение целевого продукта осуществляют, как описано в примере 1, но в качестве сорбента используют Toyopearl HW-40. Выход целевого продукта 0,6 г или 0,06% от веса исходного сырья.

Пример 3. В качестве сырья используют дефростированного морского ежа *Diadema setosum*. Экстракцию, хроматографическую очистку и выделение целевого продукта

осуществляют, как описано в примере 1. Выход целевого продукта 0,3 г или 0,03% от веса исходного биологического сырья.

Пример 4.

5 Сырье - свежельовленный морской еж *Echinotrix calamaris* (1 кг) заливают 96% этиловым спиртом (5 л) с добавлением 100 мл коцентрированной соляной кислоты (рН 1,0-1,5). Экстракцию осуществляют в течение 8 ч. Полученный экстракт коцентрируют в 10 раз и двукратно экстрагируют хлороформом в смеси с водой (хлороформ : вода 1:1) при комнатной температуре. Хлороформные экстракты пигмента объединяют, отмывают водой, упаривают до полного удаления растворителя (выход 3,2 г).
10 Хроматографическую очистку и выделение целевого продукта осуществляют, как описано в примере 1, но в качестве сорбента используют Toyopearl HW-40. Выход эхинохрома А 0,5 г или 0,05% от веса исходного биологического сырья.

Пример 5.

15 Сырье - дефростированный морской еж *Echinotrix diadema* (1 кг) заливают 96% этиловым спиртом (5 л) с добавлением 50 мл 10% серной кислоты (рН 1,8-2,0) при этом экстракцию осуществляют в течение 10 час. Полученный экстракт коцентрируют в 10 раз и двукратно экстрагируют хлороформом в смеси с водой (хлороформ : вода 1:2) при комнатной температуре. Хлороформные экстракты пигмента объединяют, отмывают водой, упаривают до полного удаления растворителя (выход 4,2 г).
20 Хроматографическую очистку и выделение целевого продукта осуществляют, как описано в примере 1, но в качестве растворителя для кристаллизации используют ацетон. Выход целевого продукта 0,5 г или 0,05% от веса исходного сырья.

Пример 6.

25 Сырье - дефростированный морской еж *Echinotrix calamaris* (1 кг) заливают 96% этиловым спиртом (5 л) с добавлением 100 мл коцентрированной соляной кислоты (рН 1,0-1,5). Экстракцию осуществляют в течение 8 ч. Полученный экстракт коцентрируют в вакууме в 10 раз и двукратно экстрагируют хлороформом (хлороформ : вода 1:2) при комнатной температуре. Хлороформные экстракты пигмента объединяют, отмывают водой, упаривают до полного удаления растворителя (выход 4,1 г).
30 Хроматографическую очистку и выделение целевого продукта осуществляют, как описано в примере 1, но в качестве сорбента используют Toyopearl HW-40, а в качестве растворителя для кристаллизации используют ацетон. Выход целевого продукта 0,5 г или 0,05% от веса исходного сырья.

Пример 7.

35 Сырье - свежельовленный морской еж *Scaphechinus mirabilis* (1 кг) заливают 96% этиловым спиртом (5 л) с добавлением 50 мл 10% серной кислоты (рН 1,8-2,0), при этом экстракцию осуществляют в течение 10 час. Полученный экстракт коцентрируют в вакууме в 10 раз и двукратно экстрагируют хлороформом в смеси с водой (хлороформ : вода 1:2) при комнатной температуре. Хлороформные экстракты объединяют,
40 отмывают водой, коцентрируют до полного удаления растворителя (выход 5,2 г). Хроматографическую очистку и выделение целевого продукта осуществляют, как описано в примере 1. Выход целевого продукта 0,9 г или 0,09% от веса исходного сырья.

Формула изобретения

45 1. Способ получения пентагидроксиэтилнафтохинона (эхинохрома А) из морских ежей, включающий экстракцию и хроматографическую очистку целевого продукта, отличающийся тем, что свежельовленные или дефростированные морские ежи экстрагируют 96% этиловым спиртом с добавлением минеральных кислот или уксусной

кислоты в соотношении сырье:экстрагент 1:(5-10) в течение 6-10 ч при комнатной температуре, затем полученный экстракт концентрируют под вакуумом и дважды экстрагируют хлороформом при объемном соотношении хлороформ:вода 1:(1-2); далее хлороформные экстракты объединяют и концентрируют под вакуумом до полного
5 удаления растворителя, затем наносят в виде сухой загрузки на хроматографическую колонку, заполненную сорбентом Полихром-1, далее колонку промывают дистиллированной водой и элюируют продукт 25-35% раствором этилового спирта; далее элюат концентрируют под вакуумом и повторно хроматографируют на колонке, заполненной сорбентом Toyopearl HW-40 или Toyopearl HW-50, в 40% этиловом спирте
10 с добавлением 0,1% муравьиной кислоты, полученный элюат концентрируют досуха, целевой продукт кристаллизуют из этилового спирта или ацетона, сушат и сублимируют.

2. Способ по п. 1, отличающийся тем, что используют морские ежи, в которых эхинохром А является основным хиноидным пигментом, с содержанием не менее 60% от суммы всех пигментов.

15

20

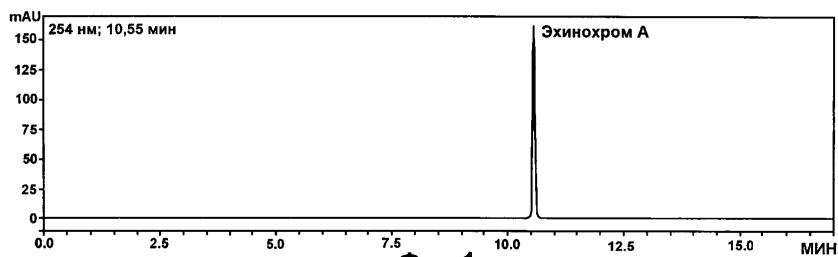
25

30

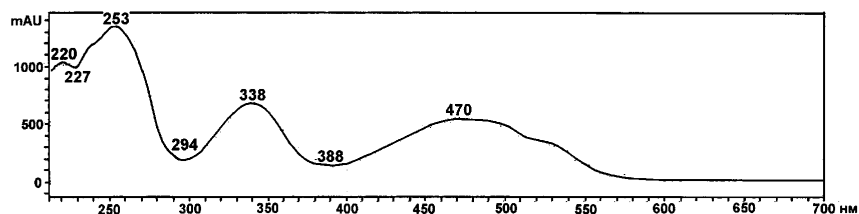
35

40

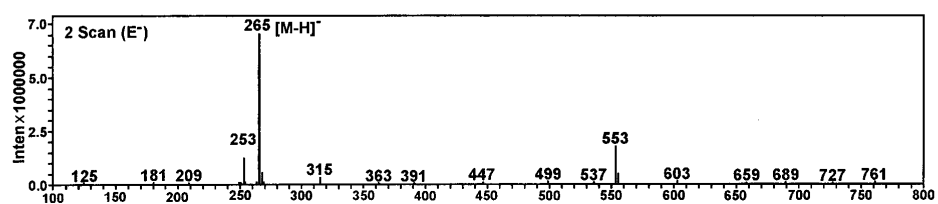
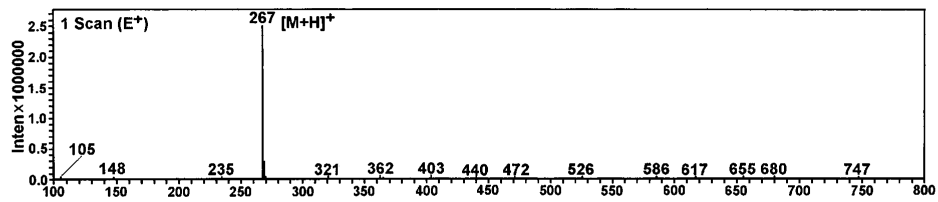
45



Фиг. 1



Фиг. 2



Фиг. 3