

ТОМСКИЙ
ПОЛИТЕХНИЧЕСКИЙ
УНИВЕРСИТЕТ



На правах рукописи

Коврижина Анастасия Руслановна

**СИНТЕЗ НОВЫХ ПРОИЗВОДНЫХ ИНДЕНОХИНОКСАЛИНА И
ТРИПТАНТРИНА В КАЧЕСТВЕ БИОЛОГИЧЕСКИ АКТИВНЫХ
СОЕДИНЕНИЙ**

АВТОРЕФЕРАТ
диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

1.4.3 – Органическая химия

Томск – 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном автономном образовательном учреждении высшего образования «Национальный исследовательский Томский политехнический университет»

Научный руководитель:

Хлебников Андрей Иванович

д.х.н., профессор НОЦ Н.М. Кижнера
федерального государственного автономного
образовательного учреждения «Национальный
исследовательский Томский политехнический
университет»

Официальные оппоненты:

Шульц Эльвира Эдуардовна

д.х.н., заведующая лабораторией медицинской
химии ФГБУН Новосибирский институт
органической химии им. Н.Н. Ворожцова
Сибирского отделения РАН

Полещук Олег Хемович

д.х.н., профессор кафедры химии и методики
обучения химии ФГБОУ ВО Томский
государственный педагогический университет

Защита состоится «23» июня 2023 года в 15:00 на заседании диссертационного совета ДС.ТПУ.09 на базе ФГАОУ ВО «Национальный исследовательский Томский политехнический университет» по адресу: просп.Ленина, 43а, Томск, 634050.



С диссертацией можно ознакомиться в научно-технической библиотеке Томского политехнического университета и на сайте dis.tpu.ru при помощи QR-кода.

Автореферат разослан _____ 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета ДС.ТПУ.09

A handwritten signature in blue ink, appearing to read 'М.Л. Белянин'.

Белянин М. Л

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность и степень разработанности темы исследования

В настоящее время подавляющее большинство применяемых в клинической практике лекарственных препаратов являются органическими соединениями, содержащими в своем составе азотсодержащие пяти- и шестичленные гетероциклические системы. Примерами таких гетероциклов служат инденохиноксалины и индолохиназолины, которые представляют интерес не только в плане создания новых биологически активных соединений на их основе, но и для химии элементоорганических соединений, - в частности, для синтеза новых π -комплексов, а также в качестве модельных объектов при изучении механизмов реакций. Однако большинство известных производных с инденохиноксалиновыми или индолохиназолиновыми ядрами обладают рядом недостатков – в частности, низкой растворимостью в воде, что препятствует дальнейшим клиническим испытаниям. В связи с этим весьма актуальными являются исследования, направленные не только на совершенствование методов их синтеза, но и на поиск принципиально новых подходов, позволяющих получать ранее недоступные функционализированные соединения и расширять области применения.

Природный алкалоид триптантрин, включающий индоло[2,1-*b*]хиназолиновую систему, представляет большой интерес в качестве объекта для исследований, поскольку производные триптантрина проявляют различные виды биологической активности. Также внимание ученых в последние несколько десятилетий привлекают гетероциклические соединения с индено[1,2-*b*]хиноксалиновой системой, которые могут рассматриваться как базовые объекты для разработки противовоспалительных препаратов. Известные производные с заместителями в ароматических циклах инденохиноксалиновой и индолохиназолиновой систем ограничены в основном алкил- и галогенпроизводными. Приведенные в литературе примеры модификации упомянутых гетероциклов по карбонильному атому кислорода не приводили к заметному повышению растворимости, а полученные продукты имели низкую биологическую активность и/или высокую токсичность. Также малоизучены реакции аминирования, диазотирования, сульфирования и восстановления данных соединений.

Известно, что некоторые триптантрины проявляют флуоресцентные свойства и обладают высоким положительным сольватохромизмом. Однако до сих пор были исследованы характеристики флуоресценции лишь галоген- и алкилзамещенных триптантринов, что говорит о необходимости изучения фотофизических свойств для более широкого ряда производных триптантрина. Это представляется важным для анализа функционирования клеток и тканей, при разработке методов адресной доставки лекарств, установлении механизмов их действия, а также с целью создания люминесцентных материалов, которые могут быть применены для биовизуализации, в хемо-физической сенсорике и при создании органических светодиодов (OLED). В связи с этим получение новых инденохиноксалинов и индолохиназолинов с улучшенной растворимостью, биодоступностью, а в ряде случаев с уникальными фотофизическими свойствами, является актуальной задачей медицинской и органической химии.

Работа выполнена в Научно-образовательном центре Н.М. Кижнера Национального исследовательского Томского политехнического университета (ТПУ). Исследования проводились при поддержке гранта РФФИ №17-15-01111 «Новые ингибиторы с-Jun-N-терминальных киназ (JNK) для защиты от ишемических и реперфузионных повреждений», Государственной программы поддержки и развития университетов «Приоритет-2030» (проект ТПУ Приоритет-2030-НИП/ИЗ-009-0000-2022) и Министерства науки и высшего образования Российской Федерации (проект Наука FSWW-2020-0011).

Целью работы является разработка простых и эффективных способов получения неизвестных ранее производных азотсодержащих гетероциклов – 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она и индоло[2,1-*b*]хиназолин-6,12-диона (триптантрина), изучение физико-химических свойств и биологической активности синтезированных соединений.

Задачи исследования

1. Синтез новых производных инденохиноксалина и триптантрина путем модификации кетогруппы, оксимной функции и гетероциклических фрагментов.
2. Исследование электронного и пространственного строения, физико-химических свойств синтезированных соединений;
3. Изучение *Z,E*-изомеризации полученных оксимов и азина;
4. Исследование люминесцентных свойств производных триптантрина;
5. Изучение биологической активности синтезированных соединений (цитотоксической, гипополипидемической, JNK-ингибирующей и противовоспалительной активности).

Научная новизна

1. Изучены факторы, влияющие на региоселективность реакции циклизации замещенных 1,2-диаминобензолов с нингидрином.
2. Разработаны способы получения новых фторсодержащих производных 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалина.
3. Получены неизвестные ранее *O*-ацил и *O*-алкилоксимы – производные 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она и триптантрина.
4. Синтезирован первый представитель класса азинов на основе 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она.
5. Впервые изучено электронное и пространственное строение полученных производных азотсодержащих гетероциклов. С применением квантовохимических методов установлено, что *Z,E*-изомеризация оксимной группы происходит путем плоской инверсии атома азота.
6. Для синтезированных новых производных инденохиноксалина и триптантрина обнаружена ингибирующая активность в отношении ферментов семейства JNK, цитотоксичность, а также противовоспалительная, гипополипидемическая и нейропротекторная активность.
7. Впервые обнаружены и исследованы люминесцентные свойства *O*-замещенных оксимов триптантрина. Показано, что введение оксимной группы в

гетероцикл триптантрина значительно повышает интенсивность и квантовый выход флуоресценции.

Практическая значимость

- Разработаны общие удобные синтетические подходы к новым производным инденохиноксалина и триптантрина, имеющим перспективы использования в качестве биологически активных соединений.

- Установлена относительная термодинамическая стабильность *Z*- и *E*-изомеров синтезированных оксимов, а также оценены энергетические барьеры процесса *Z,E*-изомеризации, что позволяет прогнозировать химическое поведение оксимов и способы их взаимодействия с биомолекулами.

- Показано, что некоторые представители синтезированных соединений являются эффективными ингибиторами ферментов семейства JNK и обладают противовоспалительной активностью.

- Обнаружены и исследованы люминесцентные свойства полученных производных триптантрина, что открывает возможности их использования для анализа функционирования клеток и тканей, при разработке методов адресной доставки лекарств, изучении механизмов их действия, а также для создания люминесцентных материалов.

- Обнаружено, что соли щелочных металлов на основе оксимов 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она и индоло[2,1-*b*]хиназолин-6,12-диона обладают цитотоксичностью по отношению к раковым клеткам РС-3 (раковые клетки простаты).

Положения, выносимые на защиту

1. Методы синтеза производных 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-онов, триптантрина и их оксимов, структурные данные некоторых полученных соединений.

2. Результаты исследования *Z,E*-изомеризации относительно связи C=N отдельных представителей синтезированных оксимов и азинов.

3. Результаты изучения люминесцентных свойств производных триптантрина.

4. Данные о цитотоксичности, противовоспалительной, гиполипидемической, нейропротекторной активности синтезированных соединений и их ингибирующей активности в отношении ферментов семейства JNK.

Степень достоверности и апробация результатов

Аналитические данные получены на оборудовании ТПУ, хроматографе Agilent Infinity (Санта-Клара, Калифорния, США) с масс-детектором Accurate Mass QTOF 6530 (Санта-Клара, Калифорния, США), а также Центра коллективного пользования Новосибирского института органической химии им. Н.Н. Ворожцова Сибирского отделения РАН.

Результаты работы представлены на International Conference on Medical, Medicine and Health Sciences (ICMMH-2022), г. Стамбул, Турция, 2022; 4th International Conference on Chemistry and Applied Sciences, г. Дубай, ОАЭ, 2022; Всероссийской молодежной школе-конференции «Актуальные проблемы органической химии» (СТОС2022), Шерегеш, Россия, 2022; Всероссийском конгрессе по химии гетероциклических соединений «KOST2021», г. Сочи, Россия, 2021; XII International Conference on Chemistry for Young Scientists «Mendeleev 2021», г. Санкт-Петербург, Россия, 2021;

Всероссийской научной конференции «Марковниковские чтения: органическая химия от Марковникова до наших дней», Красновидово, г. Москва, Россия, 2020; The 48th World Polymer Congress (IUPAC-MACRO 2020+), Чеджу, Южная Корея; International Conference on Medicinal Chemistry & Drug Discovery, г. Амстердам, Нидерланды, 2020 г.; 24th IUPAC International Conference on Physical Organic Chemistry, г. Фару, Португалия, 2018; XIV Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Перспективы развития фундаментальных наук», г. Томск, 2017; V Международной научно-технической конференции молодых ученых, аспирантов и студентов «Высокие технологии в современной науке и технике» (BTCNT-2016), г. Томск, 2016.

Методология и методы исследования

В ходе работы применялись общепринятые техники тонкого органического синтеза и контроля реакций с использованием стандартного лабораторного оборудования. Установление строения и показателей чистоты полученных соединений проводилось с использованием спектроскопии ЯМР на ядрах ^1H и ^{13}C , ИК спектроскопии, хромато-масс-спектрометрии, а также элементного и рентгеноструктурного анализа.

Личный вклад автора

Автор непосредственно участвовал в планировании, проведении и оптимизации экспериментов, проводил самостоятельный анализ литературных данных, интерпретацию полученных результатов исследования. Обсуждение результатов и подготовка публикаций велись совместно с научным руководителем.

Публикации

По теме диссертации опубликовано 17 работ: 8 статей в международных рецензируемых научных журналах, индексируемых в системах научного цитирования Web of Science и Scopus и рекомендованных ВАК РФ для публикации результатов диссертационных исследований, 8 тезисов и материалов докладов на международных и российских конференциях, 1 патент РФ.

Соответствие специальности 1.4.3 – органическая химия

Диссертационная работа соответствует п. 1 «Выделение и очистка новых соединений», п. 3 – развитие рациональных путей синтеза сложных молекул, п. 7 «Выявление закономерностей типа «структура – свойство»» и п. 10 «Исследование стереохимических закономерностей химических реакций и органических соединений» паспорта специальности 1.4.3 – органическая химия.

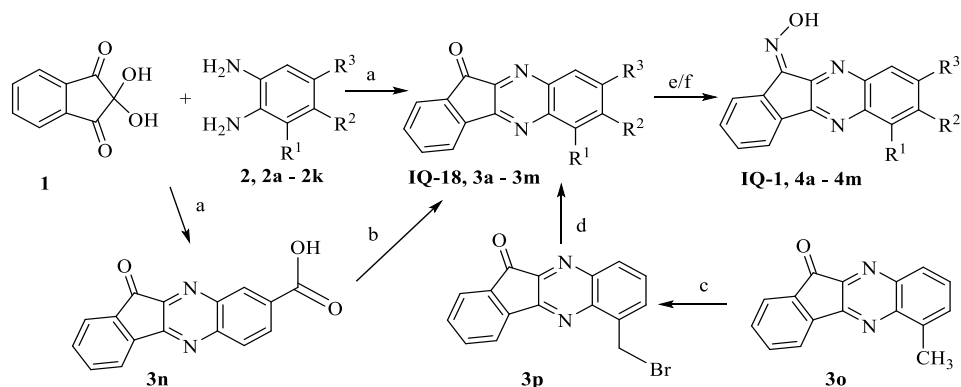
ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

Первая глава диссертации представляет собой литературный обзор методов синтеза структурных аналогов 11H-индено[1,2-b]хиноксалин-11-она и триптантрина. Обсуждаются известные данные об их биологической активности. Рассматривается электронное строение молекул и их фотофизические свойства, в частности люминесцентные характеристики производных триптантрина. **Вторая глава** содержит описание экспериментальных и вычислительных методик, характеристики использованных веществ и оборудования. В **третьей главе** приведено описание

методов синтеза новых производных 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она и триптантрина и обсуждение полученных результатов. В четвертой главе рассмотрены результаты исследования люминесценции триптантрина и его производных. Пятая глава посвящена методам синтеза солей щелочных металлов оксимов триптантрина и 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она, исследованию их биологической активности. В шестой главе приведены методы исследования биологической активности синтезированных соединений и обсуждение полученных результатов.

Исследование региоселективности гетероциклизации при синтезе производных 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она¹

При циклоконденсации нингидрина с несимметрично замещенными о-фенилендиаминами возможно образование двух региоизомеров кетонов **3a-o**, но преимущественно образуется один из них, как показано на схеме 1. Содержание основного региоизомера в большинстве случаев составляла не менее 90 %.



Соединение	2, IQ-18, IQ-1	2a, 3a, 4a	2b, 3b, 4b	2c, 3c, 4c	2d, 3d, 4d	2e, 3e, 4e	2f, 3f, 4f	2g, 3g, 4g	2h, 3h, 4h	2i, 3i, 4i	2j, 3j, 4j	2k, 3k, 4k	3l, 4l	3m, 4m	2n, 3n
R ¹	H	H	Cl	CH ₃	H	F	H	F	Br	Cl	CF ₃	H	H	CH ₂ (MRF)	H
R ²	H	F	H	H	t-Bu	H	F	F	H	H	H	F	H	H	H
R ³	H	H	H	Br	H	F	F	H	CF ₃	CF ₃	CF ₃	Cl	COOMe	H	COOH

Схема 1. Реагенты и условия: (a) AcOH, 100 °C, 30 мин, 35-90 %; (b) CDI, MeONa, диметилформамид, 25 °C, 1 ч, 80 %; (c) NBS, CCl₄, 90 °C, 2 ч, 80 %; (d) R₂NH; ТГФ; 25 °C, 25-30 %; (e) NH₂OH·HCl, C₅H₅N, EtOH, 100 °C, 4 ч, 90-95 %; (f) NH₂OH·HCl, NaOH, 80 °C, 2 ч, 90-95 %. Сокращения: MRF – морфолин-1-ил.

Таблица 1. Заряды по Малликену на атомах азота соединений **2a-k**, **2n**.

Атом азота	Заряды по Малликену диаминов ^a												
	2a	2b	2c	2d	2e	2f	2g	2h	2i	2j	2k	2n	
N1	-0.086	-0.117	-0.090	-0.033	-0.076	-0.077	-0.077	-0.107	-0.100	-0.121	-0.034	-0.101 ^b	
N2	-0.072	-0.060	-0.097	-0.006	-0.118	-0.077	-0.092	0.015	-0.034	0.003	-0.084	0.041 ^c	

^aНумерация атомов азота в замещенных бензолах соответствует правилам IUPAC; ^bзаряд на атоме азота в положении 3 3,4-диаминобензойной кислоты; ^cзаряд на атоме азота в положении 4 3,4-диаминобензойной кислоты

¹ Результаты получены совместно с научной группой О.С. Карпенко.

В случаях дифтордиаминов, используемых в синтезе соединений **3e** и **3g**, наблюдаемая региоселективность может быть обусловлена сильным орто-эффектом атома фтора рядом с одной из аминогрупп в диамине (например, из-за специфической сольватации атома фтора уксусной кислотой, используемой в качестве растворителя). Стерическое влияние метильного заместителя рядом с одной из групп NH₂ приводит к образованию кетона **3c** как основного региоизомера. Для одного из синтезированных кетонов **3b** мы подтвердили молекулярную структуру с помощью рентгеноструктурного анализа монокристаллов (рисунок 1).

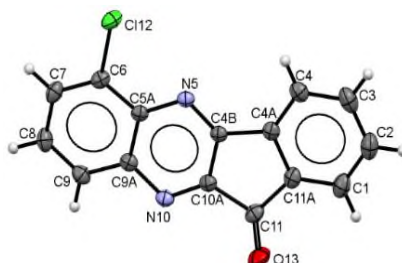


Рисунок 1. Молекулярная структура соединения **3b**, определенная методом рентгеноструктурного анализа.

*Синтез 6,7,8,9-тетрафтор-11H-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она и его оксима*

Замена атомов водорода органических соединений атомами фтора часто оказывает положительное влияние на фармакологические свойства, и в настоящее время четверть лекарств на глобальном рынке содержит фтор. В связи с этим нами были синтезированы новые тетрафторированные производные оксима 11H-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она из неизвестно ранее 6,7,8,9-тетрафтор-11H-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она (**6**) – ключевого субстрата для дальнейшего получения его производных посредством реакций по кетогруппе (Схема 2).

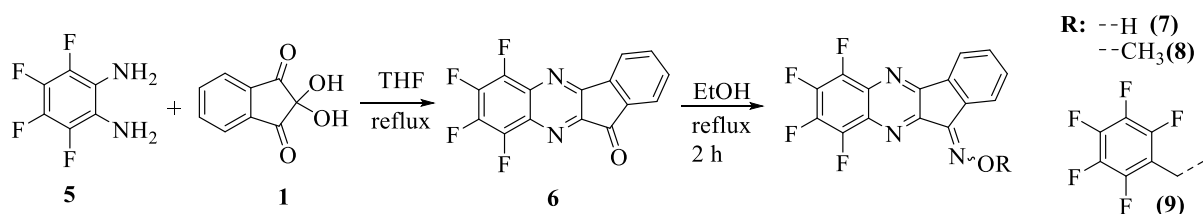


Схема 2. Синтез 6,7,8,9-тетрафтор-11H-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она **6** (выход 69%) и его производных **7-9** (выходы 32%, 77%, 75%, соответственно). Результаты получены совместно с А.В. Зибаревым.

Строение соединений **6** и **8** подтверждено рентгеноструктурным анализом (рисунок 2).



Рисунок 2. Строение соединений **6** (слева) и **8** (справа) по данным РСА. Цветовой код: С – серый, Н – светло-серый, N – голубой, О – красный, F – зеленый.

По данным спектроскопии ЯМР, оксимы **7-9** существуют в растворе в виде смеси *Z*- и *E*-изомеров относительно связи C=N. Соотношение интегральных интенсивностей сигналов ЯМР ^1H изомеров изменяется от 1:5 до 1:8 в растворе CDCl_3 для оксимов **8** и **9**, и в растворе $\text{DMSO}-d_6$ для оксима **7**. Все соответствующие сигналы *Z*- и *E*-изомеров несущественно отличаются друг от друга (до 0.14 м.д.). По данным квантово-химических расчетов методом DFT в приближении B3LYP/6-31+G(d,p) с учетом влияния растворителя (хлороформ, ДМСО) в рамках модели поляризуемого континуума (PCM), *E*-конфигурация оксимов термодинамически более выгодна. *Z*-изомер имеет вычисленную свободную энергию Гиббса для соединений **7-9**, которая выше, чем у *E* изомера, на 1.84, 2.23 и 1.84 кДж/моль соответственно. На основании этих результатов мы предполагаем, что синтезированные образцы соединений **7-9** содержат преимущественно более стабильные *E*-изомеры.

Оксимирование 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она и триптантрина

Удобным путем синтеза *O*-замещенных производных исследуемых оксимов является их получение из соответствующих кетонов 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она (**IQ-18**) и триптантрина (**TRYP**) по реакции оксимирования *O*-*R*-гидроксиламинами (схема 3). В настоящей работе проведено оксимирование **IQ-18** и **TRYP** гидрохлоридами *O*-метил-, *O*-этил-, *O*-бензил-, *O*-трет-бутил-, *O*-трифторэтил-, *O*-пентафторбензил-, *O*-орто-нитробензил- и *O*-аллилгидроксиламина. По данным спектроскопии ЯМР ^1H , продукты **10a-d** и **11a-d**, синтезированные по схеме 3, представляют собой изомерно чистые индивидуальные соединения.

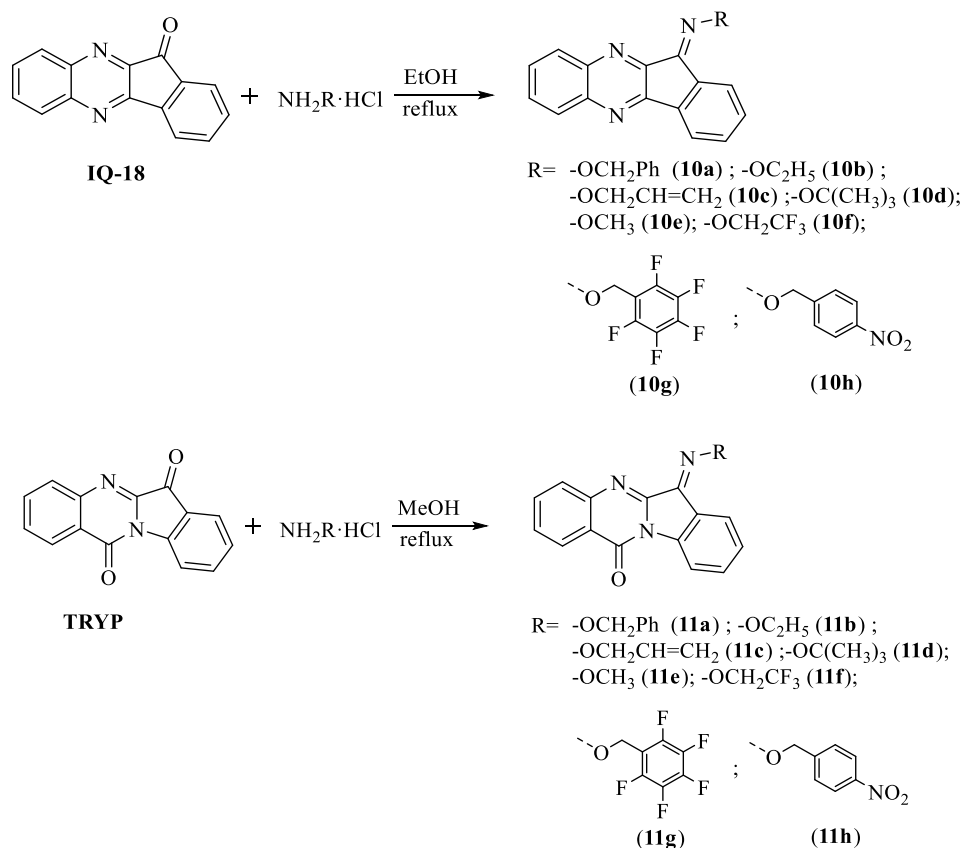


Схема 3. Оксимирование **IQ-18** и **TRYP** *O*-замещенными гидроксиламин гидрохлоридами.

Исследование реакций ацилирования и алкилирования оксимов 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она и триптантрина

Мы исследовали реакционную способность **IQ-1** и триптантрин-6-оксима (**TRYP-OX**) по отношению к алкилирующим реагентам в диметилсульфоксиде (ДМСО), поскольку растворимость **IQ-1** и **TRYP-OX** в этом растворителе выше, чем в других, и составляет около 0.01-0.02 М при комнатной температуре. В качестве оснований использовали гидроксид калия и карбонат натрия. *O*-алкилирование **IQ-1** и **TRYP-OX** в ДМСО проводили по схеме 4 при комнатной температуре и интенсивном перемешивании в присутствии двукратного молярного избытка основания (трехкратного при синтезе соединений **12b** и **13b** из-за большого содержания воды в образце кислоты).

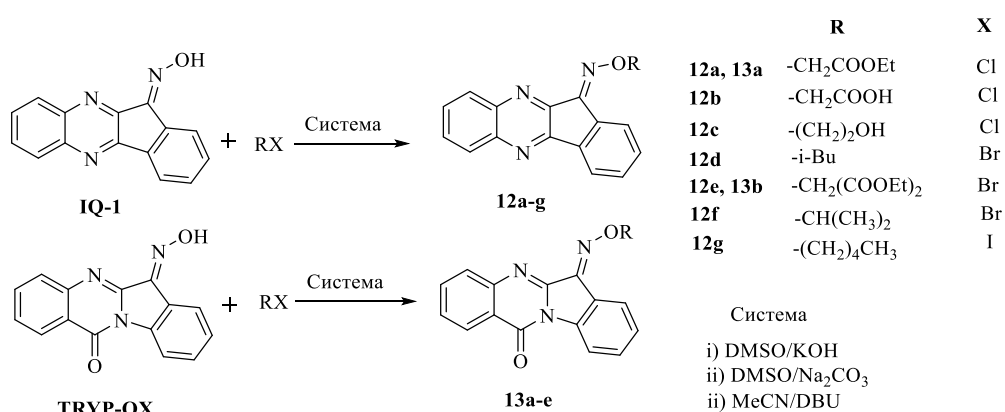


Схема 4. Алкилирование оксимов **IQ-1** и **TRYP-OX** галогензамещенными алкилирующими агентами.

Для получения ацилзамещенных оксимов 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она и триптантрина, где в качестве ацилирующих агентов выступали различные хлорформиаты (Схема 5); мы исследовали классические условия для ацилирования: раствор в пиридине при низких температурах (0°C).

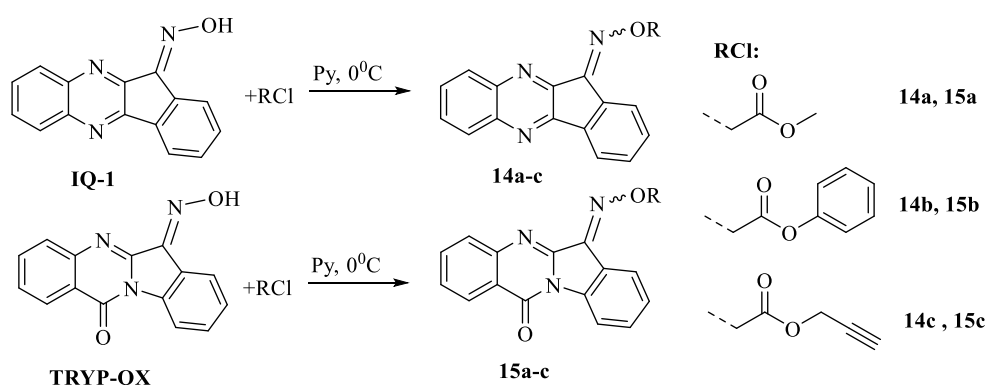


Схема 5. Ацилирование оксимов **IQ-1** и **TRYP-OX** замещенными хлорформиатами.

В качестве ацилирующих агентов были также использованы пиперонилоил хлорид, хлорангидрид цикlopентакарбоновой кислоты и этилглутароил хлорид (схема 7), в которых, как и в хлорформиатах, атом углерода, выступающий в роли электрофила, находится в состоянии sp^2 гибридизации, что обеспечивает протекание реакции по механизму ацильного замещения.

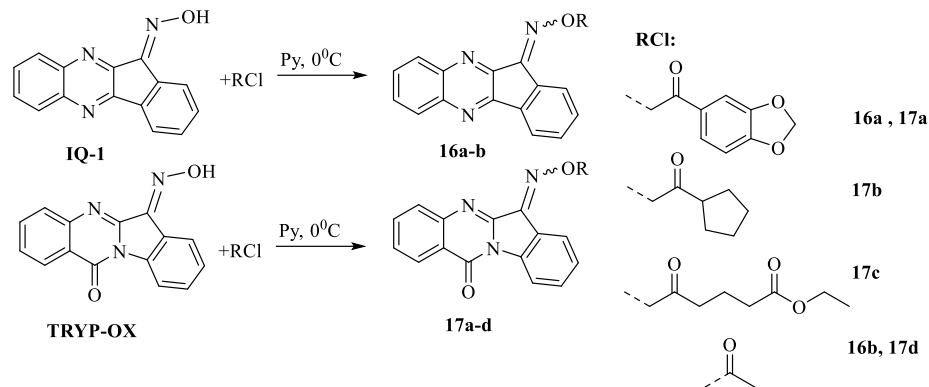


Схема 6. Ацилирование оксимов **IQ-1** и **TRYP-OX** замещенными диоксобензолом и хлоридами карбоновых кислот.

Синтез производных оксимов путем ацильного замещения в системе KOH/DMCO провести не удалось, видимо, по причине основного гидролиза хлорформиатов до солей органических кислот, а образовавшихся продуктов синтеза – до исходных оксимов. Мы также использовали в качестве алкилирующих агентов диметил- и диэтилацетали бромацетальдегида (Схема 7).

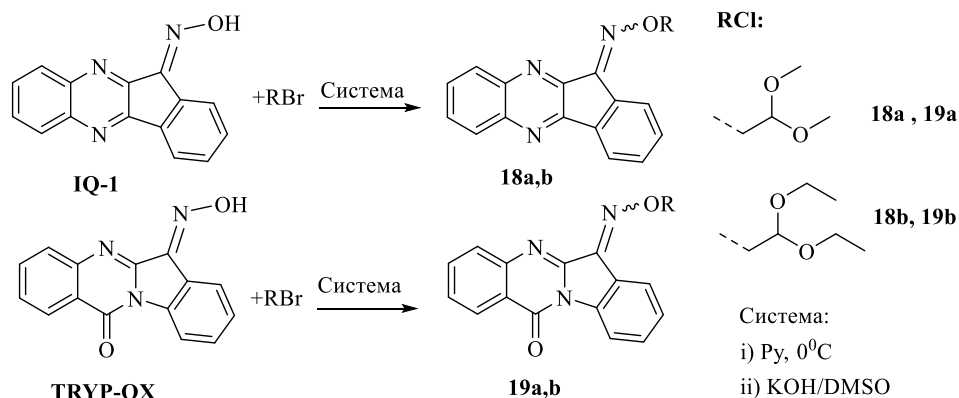


Схема 7. Алкилирование оксимов **IQ-1** и **TRYP-OX** ацеталами бромацетальдегида

Так как на ТСХ реакционных смесей при проведении реакций в пиридине отсутствовали пятна целевых продуктов, можно сделать вывод о недостаточной основности пиридина для успешного протекания процесса по механизму S_N2 . Суперосновная система KOH/DMCO обеспечивает образование продуктов алкилирования с выходами 27-41%.

Синтез азина 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она

В настоящее время особенности сопряжения через азиновую подструктуру $C=N-N=C$ и его модуляция в зависимости от заместителей практически не исследованы. В настоящей работе нами синтезирован первый представитель азина с 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалиновым фрагментом. Мы предварительно получили кетон **IQ-18** и его гидразон (**20**). Модификацию соединения **20** до целевого продукта **21** проводили действием замещенного бензальдегида (Схема 8).

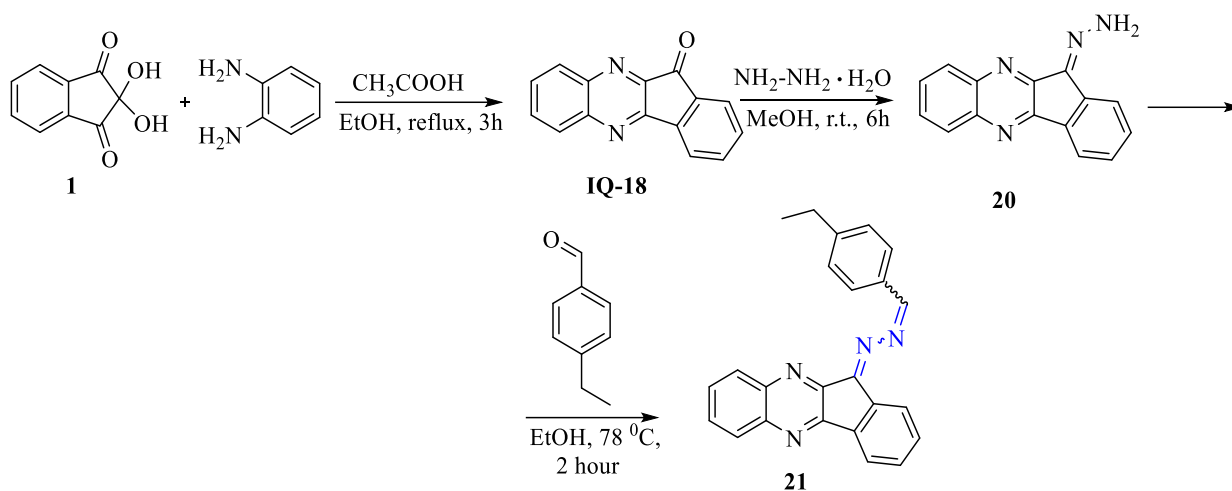


Схема 8. Синтез нового азина **21** на основе кетона **IQ-18**.

Согласно данным ЯМР (CDCl_3), очищенное соединение **21** существует в виде смеси геометрических изомеров из-за наличия связей $\text{C}=\text{N}$. Спектр ЯМР ^1H продукта **21** содержит в слабом поле два различных сигнала иминного протона $\text{N}=\text{CH}$ при 8.91 и 8.85 м.д. с соотношением интегральных интенсивностей 0.35/0.65, а также типичные сигналы этильной группы при 1.30 м.д. (два триплета из разных изомеров) и 2.75 м.д. (мультиплет). Сигналы гетероцикла инденохиноксалина наблюдались в диапазоне от 7.5 до 8.5 м.д. Структура также была дополнительно доказана методом ВЭЖХ-МС.

Для соединения **21** мы исследовали относительную стабильность четырех возможных геометрических изомеров в хлороформе методом DFT. Оптимизированные структуры изомеров представлены на рисунке 3.

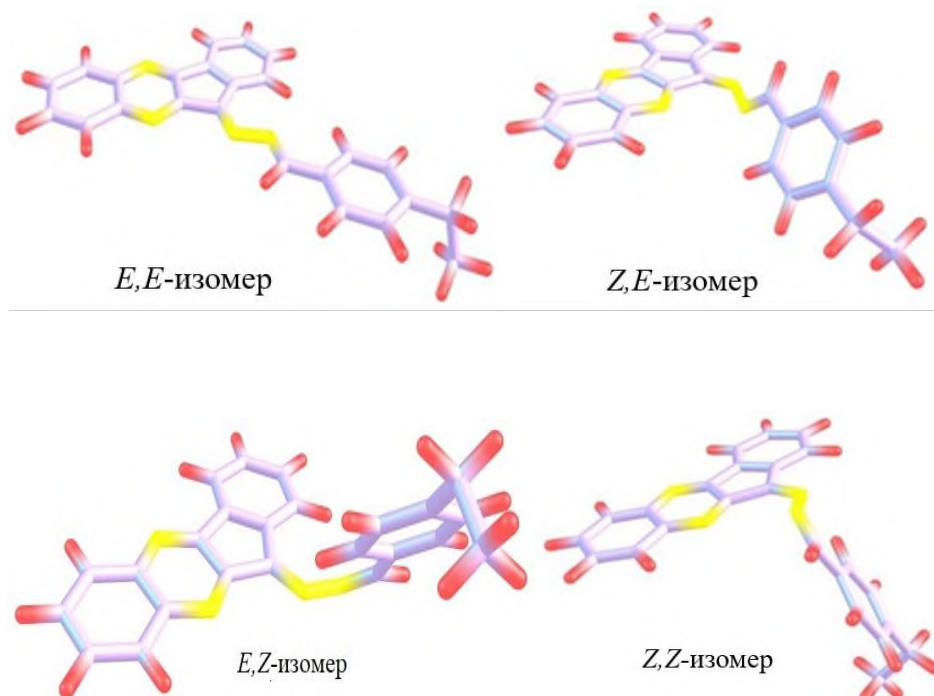


Рисунок 3. Оптимизированные структуры геометрических изомеров соединения **21**.

Наиболее термодинамически стабильным оказался *E,E*-изомер (здесь и далее первый символ в обозначении изомеров описывает конфигурацию азиновой связи $\text{C}=\text{N}$,

сопряженной с инденохиноксалиновым фрагментом, а второй символ относится к связи C=N рядом с *n*-этилфенильным фрагментом). Мы также оценили энергетические барьеры для *Z,E*-изомеризации азиновых связей C=N с помощью методологии Climbing Image Nudged Elastic Band (CI-NEB). Результаты оценки показывают, что взаимное превращение в обоих парах изомеров происходит за счет плоской инверсии атома азота, как и в других подобных соединениях, т.е. без вращения вокруг двойных связей C=N. Так, значения валентных углов N-N=C в структурах CI близки к 160° (рисунок 4). Основываясь на рассчитанных энергиях CI, мы оценили барьеры изомеризации $E,E \rightleftharpoons Z,E$ и $E,E \rightleftharpoons E,Z$ величинами 89 и 84 кДж/моль соответственно.

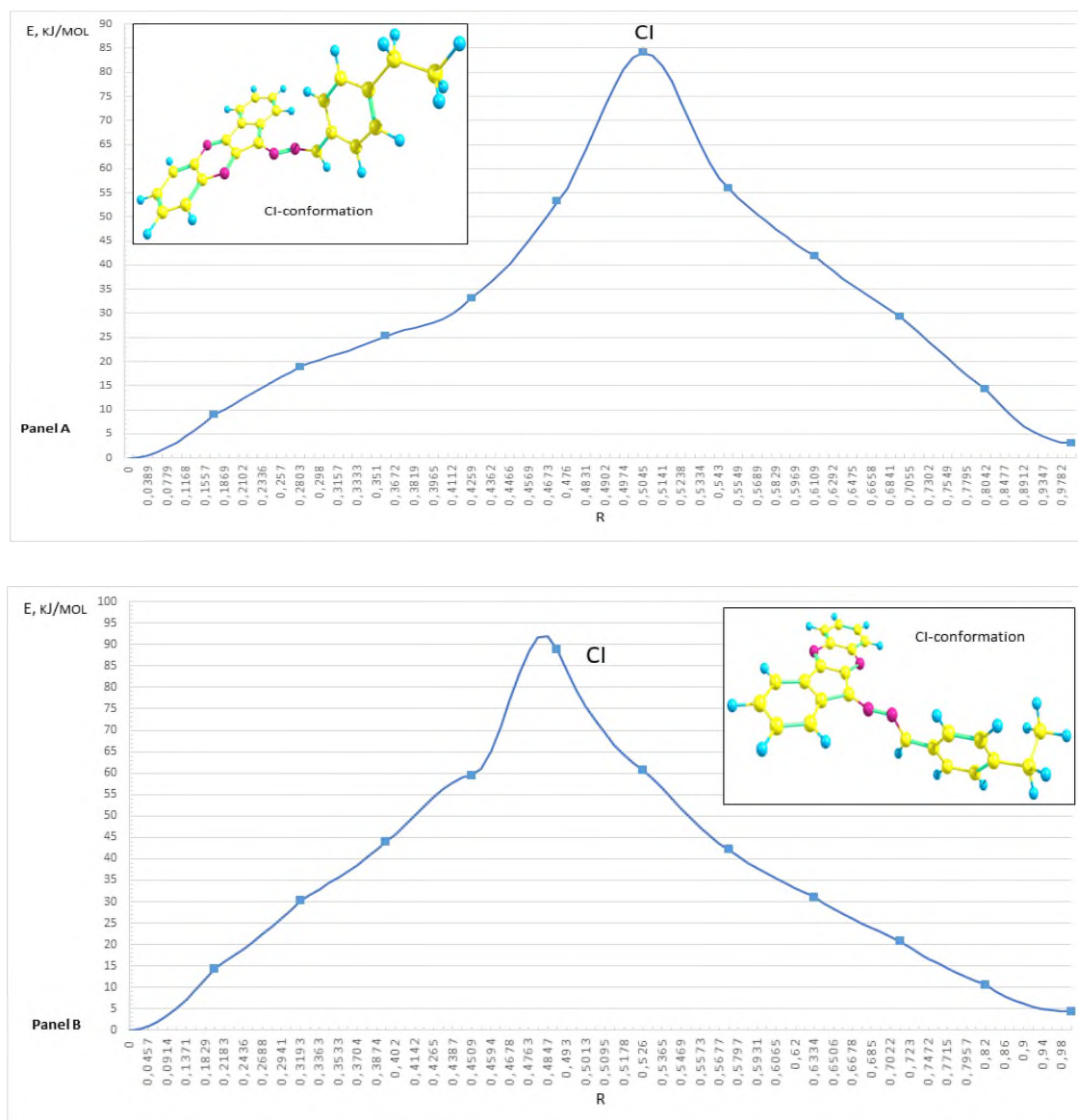


Рисунок 4. Интерполированные энергетические профили для $E,E \rightleftharpoons E,Z$ и $E,E \rightleftharpoons Z,E$ изомеризации соединения **21** (панели А и В соответственно). На вставках изображены геометрические структуры CI, моделирующие переходные состояния.

Исследование люминесценции производных оксима триптантрина

Исследование люминесценции флуориметрическим методом

При проведении тонкослойной хроматографии (элюент хлороформ) по завершении синтеза производных триптантрина наблюдается ярко-голубое свечение

пятен при УФ-облучении (365 нм), что говорит о проявлении люминесцентных свойств. Дальнейшие экспериментальные исследования проводили в режиме сканирования по регистрации люминесценции в ацетонитриле (результаты получены совместно с С.Е. Патласовой и Е.И. Коротковой). В сравнении с исходным кетоном – триптантрином – его оксимы обладают гораздо более выраженными люминесцентными свойствами, за исключением соединения **17a**. В зависимости от введенного заместителя несколько меняются длины волн возбуждения и люминесценции при синхронном сканировании, а также наблюдаемая интенсивность. Длины волн возбуждения триптантрина и его производных находятся в диапазоне от 400 до 420 нм. Триптантрин имеет максимум люминесценции при 520 нм, тогда как длины волн люминесценции изученных производных триптантрина смещены в коротковолновую область и находятся в диапазоне от 440 до 480 нм. О-замещенные триптантрины обладают более высокими квантовыми выходами по сравнению с триптантрином. Кроме того, большинство из них, за исключением соединения **17a**, имеют довольно высокие значения данного показателя. Для ряда производных триптантрина квантовые выходы находятся в диапазоне от 0.90 до 1.00 (**11a**, **11d**, **11f**, **13e**, **15c**, **17d**), что сравнимо с квантовым выходом флуоресцеина и свидетельствует о хороших перспективах применения исследованных соединений в качестве люминофоров. Экспериментально определенное время жизни возбужденного состояния составляет от $4,1 \cdot 10^{-7}$ до $9,6 \cdot 10^{-7}$ с, что характерно для излучательного перехода $S_1 \rightarrow S_0$, т.е. наблюдаемое люминесцентное излучение можно классифицировать как флуоресценцию.

Квантовохимическое исследование люминесценции

Поскольку заместители в исследованных триптантринах близки между собой по электронным характеристикам, являясь слабыми электронодонорными группами, результаты вычислений, полученные для всех производных, в целом аналогичны друг другу. Поэтому в настоящем разделе мы сосредоточимся главным образом на результатах расчетов, полученных для **TRYP** и О-метильного производного **11e** (рисунок 5).

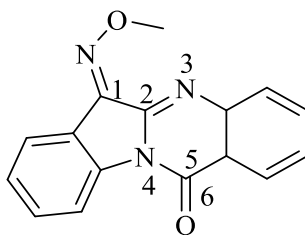


Рисунок 5. Структура соединения **11e**.

Z,E-изомеризация соединения **11e** исследована методом DFT с функционалом M06-2X в сочетании с базисным набором aug-cc-pVDZ и моделью сольватации IEFPCM (растворитель – ацетонитрил). Для метилпроизводного **11e** *E*-изомер термодинамически более стабилен, чем *Z*-изомер ($\Delta H^\circ_{298} = 10.1$ кДж/моль; $\Delta G^\circ_{298} = 9.8$ кДж/моль для перехода $E \rightarrow Z$); энергетический барьер составляет около 205 кДж/моль, что практически исключает возможную изомеризацию при обычных температурах. Согласно результатам расчетов, изомеризация относительно связи C=N происходит

путем плоской инверсии атома азота, аналогично азину **21** (см. выше).

Возбужденные состояния и характеристики электронных переходов вычислены методом TDDFT. Показано, что большую роль для проявления флуоресцентных свойств играет внутримолекулярный перенос заряда (ICT) при одноэлектронном возбуждении с участием граничных молекулярных орбиталей. Рассчитанные вибрационно разрешенные спектры поглощения и флуоресценции соединений **TRYP** и **11e** (*E*-изомеры) показаны на рисунке 6. Перекрывание между полосами поглощения и флуоресценции более выражено для **11e**, чем для **TRYP**, что указывает на более высокую вероятность переноса электронной энергии (EET) для первого из этих соединений, чем для второго, в соответствии с наблюдаемыми интенсивностями флуоресценции.

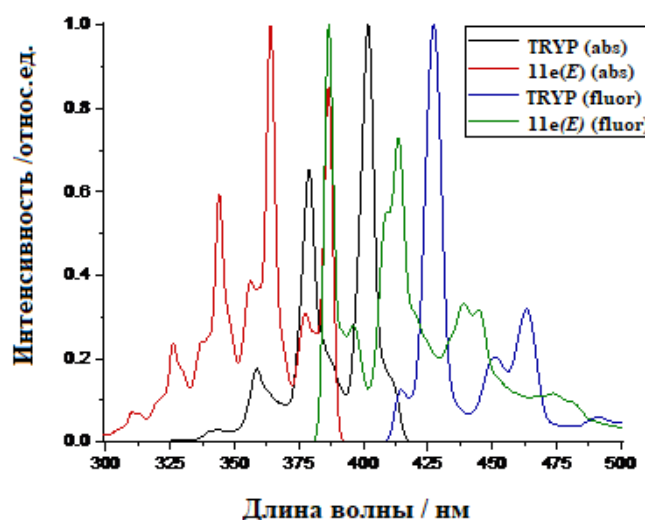


Рисунок 6. Вибрационно-разрешенные спектры поглощения и флуоресценции **TRYP** и **11e** (*E*-изомер), рассчитанные методом TDDFT M06-2X/aug-cc-pVDZ в ацетонитриле (сольватационная модель IEFPCM). Результаты получены совместно с Э. Бенасси.

Вычисленные положения максимумов флуоресценции в целом хорошо согласуются с экспериментальными данными, что говорит о возможности априорного оценивания флуоресцентных характеристик триптантринов методом TDDFT. Наши предварительные результаты демонстрируют хорошие перспективы использования оксимов триптантрина для анализа клеточных и тканевых функций, адресной доставки лекарств, изучения механизмов действия лекарств, а также для разработки люминесцентных материалов, полезных для биоимиджинга, хемофизической сенсорики и для создания органических светодиодов (OLED).

Синтез и исследование солей щелочных металлов оксимов триптантрина и 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она

Синтез

На схемах 9 и 10 приведены разработанные способы получения солей щелочных металлов (оксиматов), содержащих инденохиноксалиновый или триптантриновый фрагменты. При синтезе солей **IQ-1** в качестве растворителя был использован этанол, а

реакцию **TRYP-OX** с гидроксидами щелочных металлов проводили в метаноле, с учетом различий в растворимости оксимоов.

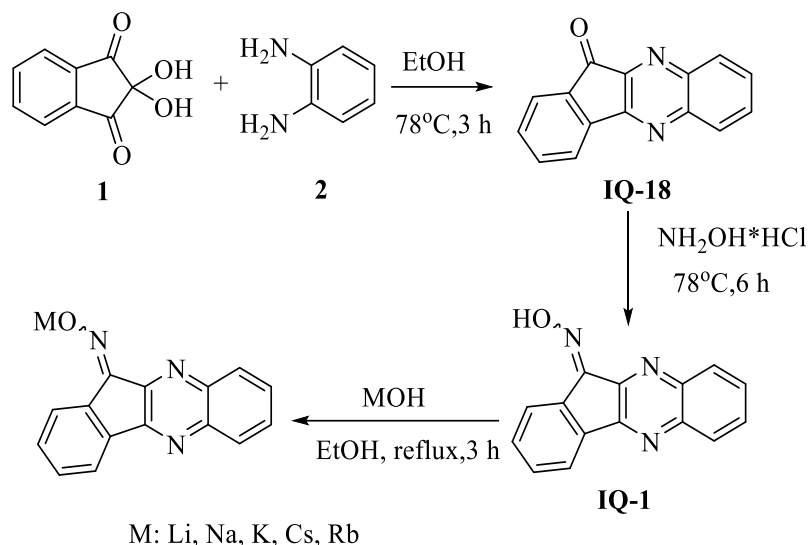


Схема 9. Общий путь синтеза солей 11H-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-он оксима (**IQ-1L**, **IQ-1S**, **IQ-1K**, **IQ-1Cs**, **IQ-1Rb**).

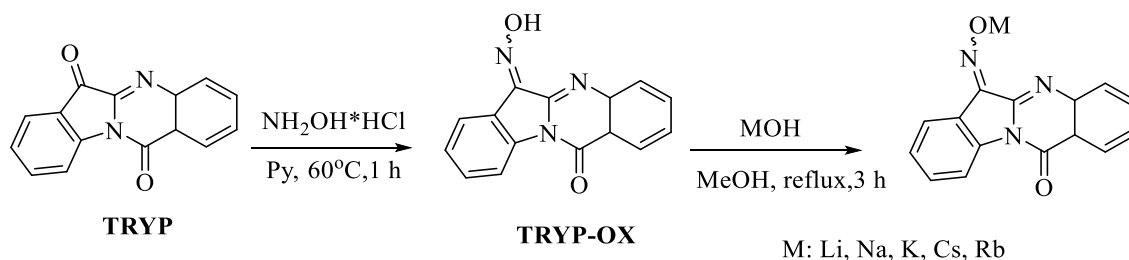


Схема 10. Общий путь синтеза солей триптантрин-6-оксима (**TRYP-OxL**, **TRYP-OxS**, **TRYP-OxK**, **TRYP-OxCs**, **TRYP-OxRb**).

В спектрах ЯМР ^1H (DMSO-d_6) полученных продуктов сигнал -ОН оксимной группы не наблюдается. Химические сдвиги протонов в составе солей отличаются примерно на 0.1 и 0.2 м.д. от положений соответствующих сигналов **IQ-1** и **IQ-18**. Кроме того, соли характеризуются высокой температурой плавления ($>300^\circ\text{C}$, разл.), которая заметно отличается от температур плавления исходных реагентов.

Растворимость

По результатам исследования растворимости солей в воде методом турбидиметрического титрования при 401 нм на УФ-спектрометре видно, что соли имеют более высокую растворимость в воде, приблизительно в 2 раза, чем исходные оксимины **IQ-1** и **TRYP-OX**. Это позволяет сделать вывод о большей биодоступности солей по сравнению с оксимины.

Оценка цитотоксичности

Предварительно установлено, что в концентрациях 25.0, 12.5 и 6.25 мкМ исследуемые оксимины оказывают слабое цитотоксическое действие на раковые клетки простаты РС-3, так как наблюдается торможение роста клеток без гибели клеток. Пример графика зависимости жизнеспособности клеток от концентрации рубидиевой

соли IQ-1 показан на рисунке 7. Морфологически клетки сохраняли свою форму, а количество погибших клеток было близко к контрольной группе. Нам не удалось достичь более высоких концентраций растворов соли в ДМСО, что не позволило на данном этапе с хорошей точностью определить величину IC₅₀.

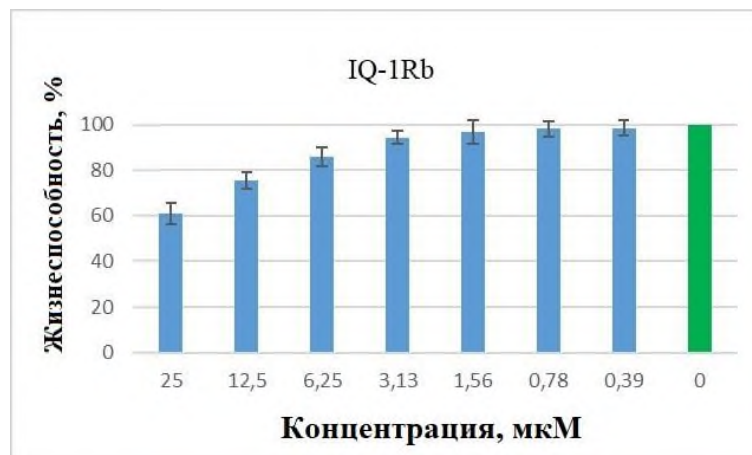


Рисунок 7. График зависимости жизнеспособности клеток от концентрации исследуемых соединений при культивировании в течение 24 часов (по результатам МТТ-теста).

Исследование биологической активности полученных производных триптантрина и 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она

Исследование гиполипидемической активности IQ-1

Совместно с коллегами из ФГБОУ ВО «СибГМУ» нами выполнены экспериментальные исследования гиполипидемической активности соединения **IQ-1** (патент РФ 2732503 С1). Для изучения данного вида активности широкое применение находит способ моделирования гиперлипидемии с помощью длительного (5-6 недель) кормления экспериментальных животных (лабораторных крыс) высокожировой диетой, богатой холестерином, с последующей инъекцией низкой дозы диабетогена стрептозотоцина. Кормление крыс высокожировой диетой в течение 28 дней приводит к развитию значительной гиперхолестеролемии: уровень общего холестерина в плазме крови крыс составил 13,59 ммоль/л; к увеличению содержания холестерина в липопротеинах низкой плотности (ХС-ЛНП) до 5,55 ммоль/л; к увеличению индекса атерогенности (ИА) до 14,0; к увеличению уровня триацилглицеролов до 5,08 ммоль/л и не приводит к изменению содержания холестерина в липопротеинах высокой плотности (ХС-ЛВП). Ежедневное интраперитонеальное введение водной суспензии **IQ-1** в дозе 20 мг/кг в течение 14 дней приводит к снижению всех описанных показателей приблизительно в 2 раза.

Исследование сродства новых соединений к ферментам JNK1-3

Все синтезированные производные инденохиноксалина и триптантрина оценивали на их способность связываться с изоформами JNK1-3 фермента c-Jun N-терминальной киназы и сравнивали с оксимами **IQ-1** и **TRYP-OX** (исследования выполнены совместно с И.А. Щепёткиным и Л.Н. Кирпотинной). Четыре замещенных по гетероциклу соединения (**4a**, **4b**, **4e** и **4l**, рисунок 8) обладают высоким сродством к JNK

со значениями K_d в субмикромольном диапазоне для всех трех изоформ JNK1-3, тогда как соединение **4f** является более селективным и обладает высоким сродством к JNK1 и JNK3, но не связывается с JNK2. Введение морфолинометильного заместителя в качестве R^1 (схема 1) привело к соединению **4m**, обладающему высокой растворимостью в воде и относительно высокой аффинностью связывания со всеми JNK. Для инденохиноксалина **12a** (рисунок 8) получены значения K_d в наномольном диапазоне для всех трех изоформ JNK. Это соединение имеет еще более низкие значения K_d для JNK1 и JNK3 по сравнению с соответствующими значениями для **IQ-1** и для коммерчески доступного ингибитора JNK **SP600125** (антрапиразолон, рисунок 8). Хотя оксимные группы могут участвовать в важных взаимодействиях в сайте связывания JNK, тетрациклическое ядро, по-видимому, отвечает за правильное позиционирование лиганда. Триптантрин-6-оксим проявлял высокую способность к связыванию с JNK1 и JNK3. При О-замещении биологический профиль молекул изменяется с увеличением селективности к JNK3, хотя и со снижением аффинности. Алкильные группы (соединения **11b-e**, схема 3) придают умеренную селективность к JNK3 с более прочным связыванием в 2-4 раза по сравнению с JNK1 и в 4-6 раз по сравнению с JNK2. Однако О-ацильные группы обеспечивают аффинность к JNK, очень сходную с незамещенным оксимом, а бензиловые эфиры оксимов (соединения **11a**, **11g-h**) оказались неактивны в отношении связывания с ферментом. Ацетилированный оксим **17d** (рисунок 8) обладает активностью, сравнимой с **TRYP-OX**. Впервые нами обнаружена высокая ингибирующая активность ряда полученных соединений в отношении ферментов семейства JNK.

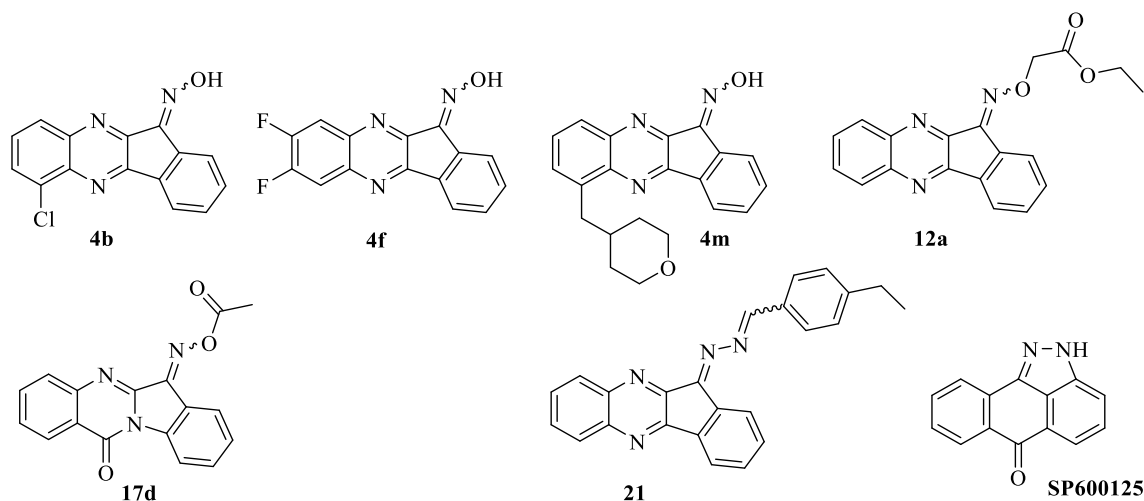


Рисунок 8. Структуры биологически активных соединений.

Исследование биологической активности на клеточных культурах

Тетрациклические производные **IQ-1**, **4b**, **4f**, **4m** и замещенный оксим **12a** обладают более высокой аффинностью к JNK1/3, чем **TRYP-OX**, вместе с тем проявляя и противовоспалительное действие в отношении лейкоцитарных клеток лейкомии человека THP-1Blue и MonoMac-6, которые играют важную роль мониторинга клеточного ответа на активацию воспалительные процессы. Это может быть обусловлено более высокой клеточной проницаемостью, чем у триптантрин-6-оксима.

О-алкилзамещенные оксимы триптантрина практически не обладают аффинностью к JNK и не ингибируют клеточные противовоспалительные ответы. Однако О-ацильные группы обеспечивают очень сходную с исходным оксимом аффинность к JNK с повышенной клеточной противовоспалительной активностью. Так, ацилированный оксим **17d** характеризуется повышенной противовоспалительной активностью в сравнении с незамещенным оксимом **TRYP-OX**. Таким образом, соединения **4b**, **4f**, **4m**, **12a** и **17d** являются перспективными кандидатами для разработки противовоспалительных препаратов на их основе.

Прогноз биодоступности и характеристик ADME in silico

Дополнительно к полученным экспериментальным данным о биологической активности мы оценили характеристики биодоступности (ADME) тетрациклических соединений **4b**, **4f** и **4m**, имеющих наибольшую биологическую активность, *in silico* с помощью онлайн-сервиса SwissADME. Кроме того, были оценены характеристики ADME для первого представителя класса азинов, соединения **21** (рисунок 8).

Рассчитанные параметры ADME показывают возможность проникновения изученных соединений через гематоэнцефалический барьер, что важно, поскольку JNK3 в основном локализуется в центральной нервной системе. Введение ацильной группы значительно улучшает показатели ADME соединения **17d** по сравнению с его предшественником триптантрин-6-оксимом и известным ингибитором JNK **SP600125**. Сравнительно с триптантрин-6-оксимом и **SP600125**, молекула **17d** обладает более высокой гибкостью и полярностью, что дает возможности для взаимодействия с более широким кругом биомолекул.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны удобные методы синтеза неизвестных ранее производных 11H-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она, триптантрина и их оксимов. Обнаружена высокая ингибирующая активность ряда полученных соединений в отношении ферментов семейства JNK, а также противовоспалительная активность на клетках лейкемии человека.

2. Методом рентгеноструктурного анализа (РСА) впервые была установлена кристаллическая и пространственная структура 6,7,8,9-тетрафтор-11H-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она, 6,7,8,9-тетрафтор-11H-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-он О-метил оксима и 6-хлор-11H-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она. Подтверждена региоселективность и определено направление взаимодействия 1,2-диамино-3-хлорбензола с нингидрином.

3. Синтезирован первый пример азина на основе 11H-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она, что открывает возможности для исследования и применения этого класса азинов в органической, координационной и медицинской химии. Методом ЯМР и с помощью квантовохимических расчетов изучена *Z,E*-изомеризация полученного 11H-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-он 2-(4-этилбензилиден)гидразона, определен энергетический барьер изомеризации, которая протекает путем плоской инверсии атома азота.

4. Впервые экспериментальными и квантовохимическими методами

исследованы люминесцентные свойства О-замещенных оксимов триптантрина. Показаны перспективы использования этого ряда соединений для создания флуоресцентных биомаркеров, фотоэлектрических преобразователей и люминофоров.

5. Получены новые представители оксиматов щелочных металлов на основе оксимов триптантрина и 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она, которые проявляют умеренную цитотоксичность на раковых клетках простаты РС-3 и клеток лейкемии человека МоноМас-6 и ТНР-1. Синтезированные оксиматы имеют повышенную водорастворимость в сравнении с соответствующими оксимами, что дает возможность их использования для создания новых лекарственных форм с улучшенной биодоступностью.

Основное содержание работы изложено в следующих публикациях:

1. A.P Lakeev. Quantification of a promising JNK inhibitor and nitrovasodilator IQ-1 and its major metabolite in rat plasma by LC–MS/MS / G.A Frelikh, E.A Yanovskaya, **A.R Kovrizhina**, V.V Udut // Bioanalysis. – 2023. – Vol. 14. – No.22. – P. 1423-1441.
2. I.A. Schepetkin. Design, synthesis and biological evaluation of novel O-substituted tryptanthrin oxime derivatives as c-Jun N-terminal kinase inhibitors / **A.R. Kovrizhina**, K.S. Stankevich, A.I. Khlebnikov, L.N. Kirpotina, M.T. Quinn, M.J. Cook // Frontiers in Pharmacology. – 2022. – No. 13:958687.
3. I.A. Schepetkin. Neuroprotective Effects of the Lithium Salt of a Novel JNK Inhibitor in an Animal Model of Cerebral Ischemia-Reperfusion / G.A. Chernysheva, O.I. Aliev, L.N. Kirpotina, V.I. Smol'yakova, A.N. Osipenko, M.B. Plotnikov, **A.R. Kovrizhina**, A.I. Khlebnikov, E.V. Plotnikov, M.T. Quinn // Biomedicines. – 2022. – Vol. 10. – No. 9. – P. 2119.
4. S.A. Liakhov. Novel c-Jun N-Terminal Kinase (JNK) Inhibitors with an 11*H*-Indeno[1,2-*b*]quinoxalin-11-one Scaffold / I.A. Schepetkin, O.S. Karpenko, H.I. Duma, N.M. Haidarzhy, L.N. Kirpotina, **A.R. Kovrizhina**, A.I. Khlebnikov, I.Y. Bagryanskaya, M.T. Quinn // Molecules. – 2021. – Vol. 26. – No. 18. – P. 5688.
5. **A.R. Kovrizhina**. Ethyl 5-Oxo-5-(((12-oxoindolo[2,1-*b*]quinazolin-6(12*H*)-ylidene)amino)oxy) pentanoate / A.A. Kolpakova, A.A. Kuznetsov, A.I. Khlebnikov // Molbank. – 2022. – Vol. 2022. – No. 4. – P. M1451.
6. **A.R. Kovrizhina**. 11*H*-Indeno[1,2-*b*]quinoxalin-11-one-2-(4-ethylbenzylidene)hydrazine / E.I. Samorodova, A.I. Khlebnikov // Molbank. – 2021. – Vol. 2021. – No. 4. – P. M1299.
7. K.S. Stankevich. Poly (ε-caprolactone) Scaffolds doped with c-Jun N-terminal kinase inhibitors modulate phagocyte activation / I.A. Schepetkin, S.I. Goreninskii, A.K. Lavrinenko, E.N. Bolbasov, **A.R. Kovrizhina**, L.N. Kirpotina, V.D. Filimonov, A.I. Khlebnikov, S.I. Tverdokhlebov, M.T. Quinn // ACS Biomaterials Science & Engineering. – 2019. – Vol. 5. – No. 11. – P. 5990-5999.
8. I.A. Schepetkin. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of 11*H*-indeno[1,2-*b*]quinoxalin-11-one derivatives and tryptanthrin-6-oxime as c-Jun N-terminal kinase inhibitors / A.I. Khlebnikov, A.S. Potapov, **A.R. Kovrizhina**, V.V. Matveevskaya, M.L. Belyanin, D.N. Atochin, S.O. Zanoza, N.M. Gaidarzhy, S.A. Lyakhov,

L.N. Kirpotina, M.T. Quinn. // European journal of medicinal chemistry. – 2019. – Vol. 161. – P. 179-191.

9. Кайдаш О.А. Средство, обладающее гипополипидемической активностью / Хлебников А.И., Щепёткин И.А., Иванов В.В., **Коврижина А.Р.**, Буйко Е.Е., Перина Е.А. Патент на изобретение RU 2732503 C1, 18.09.2020. Заявка № 2020104977 от 04.02.2020.

Основное содержание работы представлено на российских и международных конференциях:

10. **А.Р. Коврижина.** Исследование люминесценции производных триптантрин-6-оксима / М.М. Алексеева, Е.И. Короткова, А.И. Хлебников, Э. Бенасси // Актуальные проблемы органической химии. – Шерегеш, 2022. – С. 79-79.

11. **A.R. Kovrzhina.** New analogs of tryptanthrin-6-oxime as perspective JNK inhibitors / A.I. Khlebnikov, I.A. Schepetkin // Сборник тезисов XII Международной конференции молодых ученых. – Санк-Петербург, 2021. - P.579.

12. **А.Р. Коврижина.** Синтез первых полифторированных производных 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она // Перспективы развития фундаментальных наук: сборник научных трудов XVIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых - Томск, 2021. – Т. 2. – С. 116-118.

13. **А.Р. Коврижина.** Методы модификации кето-группы и оксимного фрагмента оксима 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она и триптантрина / А.А. Кузнецов, Е.И. Самородова, А.И. Хлебников // Сборник тезисов Всероссийского конгресса по химии гетероциклическим соединениям «KOST2021». -Сочи, 2021.- С.217.

14. А.А. Кузнецов. Метод получения новых о-ацилоксимов триптантрина / **А.Р. Коврижина** // Перспективы развития фундаментальных наук: сборник научных трудов XVIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых. – Томск, 2021. – Т. 2. – С. 134-136.

15. А.А. Кузнецов. Синтез новых О-ацилоксимов на основе гетероциклической системы 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она / **А.Р. Коврижина**, А. И. Хлебников // Химия и химическая технология в XXI веке: материалы XXII Международной научно-практической конференции студентов и молодых ученых имени выдающихся химиков ЛП Кулёва и НМ Кижнера, посвященной 125-летию со дня основания Томского политехнического университета. – Томск, 2021. – Т. 1. – С. 201-202.

16. Е. И. Самородова. Синтез новых альдазинов 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она / **А.Р. Коврижина** // Сборник научных трудов XVIII Международной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых.- Томск, 2021.- С. 229-231.

17. **А.Р. Коврижина.** Синтез О-*R*-замещенных аналогов оксима 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она как потенциальных ингибиторов JNK3 / А.И. Хлебников, И.А. Щепёткин // Марковниковские чтения: Органическая химия от Марковникова до наших дней (WSOC 2020): сборник тезисов Всероссийской научной конференции. –Красновидово, 2020. -С.126.