## МИНИСТЕРСТВО НАУКИ И ВЫСШЕГО ОБРАЗОВАНИЯ РОССИЙСКОЙ ФЕДЕРАЦИИ

Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение высшего образования «Национальный исследовательский Мордовский государственный университет им. Н.П. Огарёва»

На правах рукописи

Балакирева Ольга Игоревна

# СИНТЕЗ, АНТИОКСИДАНТНЫЕ И ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА АНАЛОГОВ РЕСВЕРАТРОЛА, СОДЕРЖАЩИХ ФРАГМЕНТ ПИРИДИНОЛА-3

1.4.3. Органическая химия

Диссертация на соискание ученой степени кандидата химических наук

Научный руководитель: Семенов Александр Владимирович, к.х.н., доцент

Саранск 2024

# СОДЕРЖАНИЕ

СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ	4
ВВЕДЕНИЕ	6
1 Литературный обзор	12
Синтетические аналоги ресвератрола. Получение и физиологическая ак-	
ТИВНОСТЬ	
1.1 Аналоги с заменой двойной связи на гетероциклический линкер	13
1.2 Аналоги с заменой арильных фрагментов на гетероциклические	25
структуры	
2 Обсуждение результатов	39
2.1 Теоретическая оценка ADME параметров исследуемых аналогов	42
2.2 Теоретическая оценка токсичности исследуемых соединений	50
2.3 Теоретическая оценка антиоксидантных свойств исследуемых ана-	52
ЛОГОВ	
2.4 Синтез аналогов ресвератрола	63
2.4.1 Синтез стильбазольных аналогов ресвератрола	
2.4.2 Синтез аналогов ресвератрола с имидазольным линкером	76
2.4.3 Синтез аналогов ресвератрола с остовом имидазо[4,5- <i>b</i> ]пиридина	81
2.5 Оценка цитотоксичности стильбазольных аналогов ресвератрола	83
2.6 Оценка антирадикальной и антиоксидантной активности	85
2.6.1 Оценка антирадикальной активности	85
2.6.2 Оценка антиоксидантных свойств	88
2.6.3 Исследование влияния ресвератрола и его синтетических аналогов	103
на митохондриальное дыхание	
2.7 Исследование комплексообразующих свойств	106
2.8 Исследование фотофизических свойств	117
2.8.1 Производные со стильбазольным остовом	120
2.8.2 Имидазолы ( <b>36,в</b> ) и производные имидазо[4,5- <i>b</i> ]пиридина ( <b>46,в</b> )	124

2.8.3 Оценка влияния рН и окислителей на фотофизические свойства	126
стильбазола (1в)	
3 Экспериментальная часть	138
3.1 Синтез вспомогательных реагентов	139
3.2 Синтез стильбазольных аналогов	140
3.3 Синтез аналогов ресвератрола с имидазольным линкером	158
3.4 Синтез аналогов ресвератрола с остовом имидазо[4,5-b]пиридина	167
3.5 Исследование антирадикальной активности	172
3.6 Исследование кинетики поглощения кислорода в реакции окисления	173
линолевой кислоты	
3.7 Исследование влияния рН и окислителей на фотофизические свой-	173
ства стильбазола (1в)	
ВЫВОДЫ	174
СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ	176
Приложение А	197
Приложение Б	201

## СПИСОК СОКРАЩЕНИЙ И УСЛОВНЫХ ОБОЗНАЧЕНИЙ

- АДФ аденозиндифосфат
- АФК активные формы кислорода
- ВЗМО высшая занятая молекулярная орбиталь
- КССВ константа спин-спинового взаимодействия
- РЕСВ ресвератрол
- ТБК тиобарбитуровая кислота
- ЭМГП 3-гидрокси-6-метил-2-этилпиридин
- ADMET адсорбция, распределение, метаболизм, выведение, токсичность
- dba дибензилиденацетон
- DCC дициклогексилкарбодиимид
- DFT (density functional theory) теория функционала плотности
- DIBAL-H диизобутилалюминий-гидрид
- DMAP-4-диметиламинопиридин
- dppf –1,1'-бис(дифенилфосфино)ферроцен
- EGTA этиленгликольтетрауксусная кислота
- НМВС (<sup>1</sup>Н-<sup>15</sup>N) гетероядерная многосвязная корреляционная спектроско-

пия

- iNOS индуцируемая NO-синтаза
- LD<sub>50</sub> полулетальная доза
- LiTMP 2,2,6,6-тетраметилпиперидид лития
- МОМ метоксиметил
- MOPS (3-(N-морфолино)пропансульфокислота
- MW –микроволновое излучение
- NCS *N*-хлорсукцинимид
- NF ядерный фактор транскрипции
- NOESY ядерная спектроскопия с эффектом Оверхаузера
- РМВ *пара*-метоксибензил
- ТВАВ тетрабутиламмонийбромид

TMEDA- тетраметилэтилендиамин

TNF – фактор некроза опухоли

### PS-DIEA – диизопропиламинометилполистирол

МТТ - 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил-тетразолий бромид

VEGF – фактор роста эндотелия сосудов

#### введение

*Актуальность темы.* Активные формы кислорода (АФК) участвуют в регуляции многих физиологических процессов организма, выполняя критически важные функций в нескольких клеточных сигнальных путях. При этом клетки имеют защитный механизм в форме антиоксидантной системы, которая поддерживает концентрацию АФК на безопасном уровне, устраняя при необходимости их переизбыток. Диспропорция между продукцией АФК и способностью антиоксидантной системы организма к их поглощению приводит к окислительному стрессу, который становится важным фактором развития широкого круга социально значимых заболеваний (сердечно-сосудистых, нейродегенеративных, опухолевых) [1]. В этой связи обоснованной является необходимость включения экзогенных антиоксидантов в комплексную терапию и профилактику паталогических состояний, вызванных гиперпродукцией АФК.

Одним из мощных природных антиоксидантов является ресвератрол – полифенольный стильбеноид, найденный в ряде растений [2]. Многочисленные исследования выявили у этого соединения уникальный по своей широте спектр физиологических эффектов, включая кардио-, нейро-, онкопротекторные, противовоспалительные, способность замедлять процессы старения [3-7]. Однако, несмотря на внушительный терапевтический потенциал, до настоящего времени ресвератрол не вошел в клиническую практику, прежде всего, по причинам быстрого метаболизма и плохой биодоступности, связанной с низкой водорастворимостью. В связи с этим актуальной становится задача по разработке синтетических аналогов ресвератрола с потенциально более высокой биодоступностью и физиологической активностью по сравнению с природным прототипом. Особый интерес при этом представляет создание гибридных молекул [8], антиоксидантные свойства которых обусловлены не только антирадикальной активностью, но и способностью разрушать гидропероксиды. Перспективным в данном плане является введение в струк-

туру 3-гидроксипиридинового фрагмента. С одной стороны наличие атома азота призвано оказать положительное влияние на характеристики биодоступности и возможность разрушать гидропероксиды, а с другой – структурная близость к соединениям группы витамина  $B_6$  и ряду уже используемых в практике лекарственных препаратов позволит избежать повышения токсичности соединений. Кроме того, формирующаяся в результате стильбазольная система известна своими флуоресцентными свойствами. Этот факт открывает возможности создания флуоресцентных антиоксидантов, имеющих широкие перспективы в качестве биосовместимых молекулярных зондов для различных видов медико-биологических исследований.

**Цель работы.** Разработка методов синтеза новых гетероциклических аналогов *транс*-ресвератрола, содержащих структурный фрагмент пиридинола-3, и поиск в их ряду эффективных антиоксидантов, в том числе обладающих флуоресцентными свойствами.

Для достижения цели предполагалось решить следующие задачи:

1. Разработать эффективные пути синтеза аналогов ресвератрола с остовом (*E*)-6-стирилпридинола-3, а также производных, в которых этиленовый линкер заменен гетероциклическим фрагментом с целью жесткой фиксации конфигурации скелета.

2. Провести сравнительное исследование антирадикальной и антиоксидантной активности соединений.

3. Исследовать флуоресцентные свойства полученных соединений.

4. Оценить влияние структурных модификаций на токсичность синтезированных аналогов.

*Методология и методы исследования.* В работе были использованы современные методы органического синтеза, включающие реакции конденсации, введения и снятия защитных групп, металлокомлексный катализ, микроволновой синтез. Для характеристики и подтверждения строения вновь полученных соединений применены инструментальные методы исследования (ЯМР, УФ и флуоресцентная спектроскопия, ГХ и ВЭЖХ-МС, РСА, кванто-

во-химические расчеты, рентгено-флуоресцентный анализ). Оценка токсичности полученных соединений проводилась с использованием МТТ-теста, антиоксидантная активность оценивалась по способности к взаимодействию с радикалом ДФПГ и кинетике потребления кислорода при окислении линолевой кислоты, а также в МДА-тесте на модели железо-аскорбат индуцированного окисления липидов мембран митохондрий и по влиянию на митохондриальное дыхание.

*Научная новизна и практическая значимость*. Предложены эффективные методы синтеза новых аналогов ресвератрола, содержащих фрагмент придинола-3.

В рядах полученных производных выявлены зависимости антиоксидантных свойств и токсичности от строения соединений, что может быть использовано при создании новых эффективных лекарственных средств антиоксидантного типа действия.

Изучены флуоресцентные свойства полученных соединений и их зависимость от структуры и внешних факторов среды. Найден ряд соединений, изменяющих флуоресцентные свойства в зависимости от оксидантного статуса, которые могут стать основой для создания новых флуоресцентных Red-Ох-индикаторов для медицинских и биологических исследований.

Для отдельных синтезированных соединений получены положительные результаты испытаний *in vivo*, что делает перспективными дальнейшие исследования с целью создания лекарственных препаратов на их основе.

Работа выполнена при финансовой поддержке РФФИ (проект № 18-43-130004\19 «Стильбазольные аналоги ресвератрола и их регуляторное влияние на митоходриальное дыхание как основа цитопротекторного/цитостатического эффектов») и программы «У.М.Н.И.К» (договор 15430ГУ/2020 «Разработка редокс-чувствительных флуоресцентных зондов для конфокальной флуоресцентной микроскопии»).

*Личный вклад* автора заключается в активном участии в постановке целей и задач работы, решаемых в рамках диссертации, в поиске, анализе и

систематизации литературных данных, в планировании и проведении эксперимента по синтезу соединений, исследованию их антиоксидантных и фотофизических свойств, в интерпретации полученных результатов, а также в подготовке тезисов для конференций и написании статей по теме исследования.

Автор благодарит своего научного руководителя к.х.н. Семенова Александра Владимировича за помощь и советы при проведении исследований.

Также автор благодарит сотрудников МГУ им. Н.П.Огарева к.х.н. Буртасова А.А., к.х.н. Петрова П.С., Калязина В.А., Мамина Б.Ф. за проведение физико-химических исследований (ЯМР спектроскопия, ГХ и ВЭЖХ-массспектрометрия, рентгено-флуоресцентный анализ), д.ф.-м.н., профессора кафедры кристаллографии и экспериментальной физики Физического факультета ННГУ им. Н.И. Лобачевского Сомова Н.В. за проведение РСА, сотрудников Медицинского Института МГУ им. Н.П.Огарева к.м.н. Семенову Е.В., Зульфугарова П.К., к.м.н. Минаеву О.В., Бродовскую Е.В., а также сотрудника Института общей и экспериментальной биологии СО РАН к.б.н. Торопову А.А. за проведение биологических исследований. Автор благодарит к.х.н. Тарасову И.В. и всех соавторов за участие в подготовке публикаций.

#### Положения, выносимые на защиту

Синтез гидроксилированных и метоксилированных производных 2стильбазола, отличающихся количеством и положением функциональных групп, а также их *N*-метильных производных.

Синтез производных 6-(4-фенил-1*H*-имидазолил-1)пиридинола-3, гидроксилированных по фенильному фрагменту.

Синтез производных 2-фенил-1(3)*Н*-имидазо[4,5-*b*]пиридинола-6, гидроксилированных по фенильному фрагменту.

Антирадикальная и антиоксидантная активность гетероциклических аналогов ресвератрола и ее зависимость от структуры.

Флуоресцентные свойства гетероциклических аналогов ресвератрола и их зависимость от структуры соединений, кислотно-основных и окислительно-восстановительных параметров среды.

Апробация работы. Основные результаты проведенных исследований представлены на конференциях различного уровня: Х Международная конференция «Менделеев-2017» (Санкт-Петербург, 2017); 3-я Российская конференция по медицинской химии «MedChem 2017» (Казань, 2017); Всероссийская молодёжная школа-конференция "Актуальные проблемы органической химии" (Шерегеш, 2018); Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2018» (Москва, 2018); 4-я Российская конференция по медицинской химии с международным участием «МедХим-Россия 2019», (Екатеринбург, 2019); Пятая Междисциплинарная конференция «Молекулярные и Биологические аспекты Химии, Фармацевтики и Фармакологии» (Крым, 2019); III Международная конференция «Современные синтетические методологии для создания лекарственных препаратов и функциональных материалов» (Екатеринбург, 2019). XXII Международная научно-практическая конференция студентов и молодых ученых «Химия и химическая технология в XXI веке» (Томск, 2021); VII и VIII Всероссийская (заочная) молодежная конференция «Достижения молодых ученых: химические науки» (Уфа, 2022, 2023).

Публикации. Основное содержание диссертационной работы отражено в 16 публикациях: 5 статей в журналах, индексируемых Scopus и WoS и рекомендованных ВАК, и 11 тезисов докладов.

Структура диссертации. Диссертация включает введение, литературный обзор, обсуждение результатов, экспериментальную часть, выводы и список использованных источников (170 наименований). Работа изложена на 202 страницах машинописного текста, включает 12 таблиц, 60 рисунков, 2 приложения.

Соответствие диссертации паспорту специальности. Изложенный материал и полученные результаты соответствуют паспорту специальности

### 1.4.3. Органическая химия (химические науки) в пунктах

1. «Выделение и очистка новых соединений»;

3. «Развитие рациональных путей синтеза сложных молекул»;

7. «Выявление закономерностей типа «структура – свойство»»»;

8. «Моделирование структур и свойств биологически активных веществ».

#### 1 Литературный обзор

## Синтетические гетероциклические аналоги ресвератрола. Получение и физиологическая активность

Как было отмечено во введении, ресвератрол благодаря широкому спектру физиологических эффектов (антиоксидантных, антивозрастных, противовоспалительных, противораковых, антидиабетических, кардиозащитных и нейропротекторных), потенциально полезных при профилактике и лечении многих социально значимых заболеваний, стал одним из наиболее изученных природных полифенолов. Однако, многообещающие результаты, полученные в исследованиях in vitro и в ряде доклинических испытаний на животных, в случае клинических исследований на людях оказались не столь однозначными, а иногда и противоречивыми [9]. Отчасти это объясняется тремя ключевыми факторами, негативно влияющими на биологическую активность ресвератрола: во-первых, имея pKa = 8,99 и logP = 3,4, он обладает высокой гидрофобностью (растворимость в воде около 3 мг/100 мл); во-вторых, при пероральном введении ресвератрол подвергается быстрому метаболизму по Π преимущественно формируя ресвератрол-3-Офазе, неактивные глюкуронид, ресвератрол-4-О-глюкуронид и ресвератрол 3-О-сульфат [10], и, в-третьих, молекула достаточно легко подвергается цис-транс-изомеризации [11], в том числе при действии солнечного света [12] и окислительной трансформации, которая происходит под воздействием температуры и других факторов окружающей среды [13]. Для решения этих проблем может быть использовано два подхода: создание новых терапевтических систем (мицеллярные растворы, циклодекстрины, липосомы и т.д.) [10] или модификация структуры ресвератрола. При этом одной из стратегий является получение пролекарств, например, путем метилирования гидроксильных групп. Так, диметилированный аналог ресвератрола – птеростибен – не только обладает повышенной пероральной биодоступностью, но и способен преодолевать гематоэнцефалический барьер и модулировать функции центральной нервной

системы [14, 15]. Другой вариант предполагает использование ресвератрола в качестве платформы для создания синтетических аналогов не только с целью преодоления вышеуказанных недостатков, но и увеличения фармакологической активности по отношению к прототипу.

Представленные в литературе модификации структуры нативного соединения, в том числе с учётом концепции биоизостерных замен, можно разделить на три ключевых направления: варьирование типа, числа и количества заместителей в стильбеновом остове ресвератрола; замена арильных фрагментов на гетероциклические структуры и модификация линкера, соединяющего бензольные кольца. В своем обзоре мы остановимся на рассмотрении исключительно гетероциклических аналогов формируемых в рамках двух последних направлений.

#### 1.1 Аналоги с заменой двойной связи на гетероциклический линкер

Замена алкенового фрагмента на гетероциклические системы является одной из стратегий, используемых в создании аналогов ресвератрола. Основной идеей такого подхода является блокирование характерной для ресвератрола возможности *цис-транс*-изомеризации, т.е. жесткая фиксация остова в той или иной активной конфигурации, а также устранение некоторых нежелательных путей его метаболической трансформации на основе окислительных превращений с участием двойной связи. Важным критерием выбора таких систем является возможность сохранения сопряжения между арильными фрагментами, наличие которого необходимо для сохранения антиоксидантных свойств у получаемых производных.

Одним из вариантов сохранения геометрии двух фенильных колец относительно неизменной и близкой к таковой для *транс*-стильбенового скелета является формирование структур, в которых фенильные кольца находятся в положениях 1 и 3 ароматических пятичленных гетероциклов.

Так в работах [16, 17] было предложено заменить двойную связь на имидазольный цикл, в результате получены различным образом замещенные производные имидазола. Для получения производных с заместителями в положениях 1,4- и 2,4- сначала проводили кросс-сочетание по Сузуки 4(5)- бромимидазола или его 1-Ме-производного с бороновыми кислотами.



 a) PdCl<sub>2</sub>(dppf), BnEt<sub>3</sub>NCl, CsF, толуол/H<sub>2</sub>O, 110 <sup>o</sup>C, 48-96 ч; b) (CuOTf)<sub>2</sub> толуол, 1,10-фенантролин, dba, Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ксилол, 110 <sup>o</sup>C, 23-44 ч; c) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -60 - 20 <sup>o</sup>C, 48ч;
 d) Pd(OAc)<sub>2</sub>, CuI, диметилацетамид, 160 <sup>o</sup>C, 46 ч; e) Pd(OAc)<sub>2</sub>, n-Bu<sub>4</sub>NOAc, диметилацетамид, 110 <sup>o</sup>C, 24 ч; f) CuI, 110 <sup>o</sup>C, 24 ч

Затем полученные соединения вводили в реакцию Си-катализируемого *N*-арилирования, либо – в реакцию Хека с арилбромидами для введения заместителя в положения 1-, 2-, соответственно. Затем метильные группы были удалены при действии на метоксизамещенные диарилимидазолы BBr<sub>3</sub>. 2,5- Дизамещенные производные были получены в результате двухстадийного one-pot процесса.

Затем для оценки перспективы использования данных соединений в качестве противоопухолевых средств была изучена их цитотоксичность на панели линий опухолевых клеток человека NCI 60. Наилучший эффект наблюдался у гидроксипроизводного (**1h**). Приэтом его изомер (**1g**) оказался менее эффективен.

Далее в более детальном исследовании [17] было показано, что синтетические аналоги (1) и (3) проявляют более выраженные антипролиферативные свойства по сравнению с ресвератролом по отношению к клеточной линии рака яичников.

Модификация структуры посредством введения имидазольного кольца в области двойной связи без ее замены также может привести к существенному изменению свойств, как это продемонстрировано в [18].



а) ТГФ, 20 °C, 15ч; b) К<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 18-краун-6, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 40 °C, 24ч; c) SnCl<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, 78 °C, 2ч

Было установлено, что соединения (**4 а,b**) обладают высокой ингибирующей ароматазу активностью, на 3 порядка большей, чем у ресвератрола. Результаты молекулярного моделирования дают основание полагать, что это связано с дополнительным связыванием атома азота цикла с железом гема. Другим подходящим для замены гетероциклом является триазол. Так, в результате иодирования 2-фенил-1,2,3-триазола с последующим кросссочетанием были получены соединения (**5a-d**) и (**6a-e**) [19]:



a) 1. ZnCl<sub>2</sub>·TMEDA, LiTMP, ТГФ, 20 <sup>0</sup>C, 2ч; 2. I<sub>2</sub>, 20 <sup>0</sup>C, 16 ч; b) Pd(dba)<sub>2</sub>, PPh<sub>3</sub>, CsF, диоксан, 105 <sup>0</sup>C, 18ч или PdCl<sub>2</sub>, PPh<sub>3</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, диметоксиэтан, 90 <sup>0</sup>C, 24ч

Антипролиферативный эффект относительно клеточной линии рака молочной железы (MDA-MB-231) был в одних случаях сопоставим с ресвератролом (**5b**, **c**), либо несколько более выражен (**5a,d**). При этом диарильные производные (**6**) в целом обладали более высокой активностью по сравнению с моноарильными соединениями (**5**). Максимальный эффект наблюдался для производного (**6d**), значение  $IC_{50}=17.5\pm0.7$  мкМ для которого оказалось в 7,5 раз меньше, чем у ресвератрола.

Еще одна попытка замены двойной связи на 1,2,3-триазольное кольцо продемонстрирована в работе [20]. Авторами с успехом была применена реакция [3+2]циклоприсоединения арилазидов к замещенным фенилацетиленам:



a) CuSO<sub>4</sub>, аскорбат натрия, H<sub>2</sub>O, t-BuOH, 20 <sup>o</sup>C, 24ч; b) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 - 20 <sup>o</sup>C, 16ч

Согласно результатам биологических испытаний соединения (**7а,b**) более эффективно по сравнению с ресвератролом снижали жизнеспособность раковых клеток (клеточные линии нейробластомы (SH-SY5Y), рака молочной железы (MDA-MB-231), базофильного лейкоза (RBL 2H3) и карциномы поджелудочной железы человека (FG2)).

Мауhoub и соавторы опубликовали серию работ, посвященных замене двойной связи на тиазольный или тиадиазольный циклы [21-23]. В результате взаимодействия тиоамидов с бромцианоацетатом были получены производные тиадиазола, содержащие одинаковые арильные заместители.



a) CH<sub>3</sub>OH, 23 <sup>0</sup>C, 1 мин; b) H<sub>2</sub>, Pd/C, CH<sub>3</sub>OH, 23 <sup>0</sup>C, 24ч; c) HBr, CH<sub>3</sub>COOH, кипячение, 8ч

Из всех веществ только аналоги, содержащие пиридиновые циклы, оказались хорошими ингибиторами ароматазы. Было предположено, что высокая активность может быть следствием координации атома азота с железом гема. Это было подтверждено результатами молекулярного докинга. Наибольшую активность В отношении хинонредуктазы показали 0-(8h.j.o). галогензамещенные производные м-Метил или мметоксизамещенные производные оказались активны в ингибировании NFкВ (8s) и (8ii), *n*-амино- или *n*-гидроксипроизводные ингибировали образование NO, наилучшие антирадикальные свойства выявлены только у аминозамещенного (8ff).

С целью усиления способности к ингибированию ароматазы дальнейшая структурная модификация была направлена на получение производных тиазола, содержащих пиридиновый фрагмент.



a) Cs<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ДМФА, 100-120 <sup>0</sup>С или кипячение, 3-8ч; b) HBr, CH<sub>3</sub>COOH, кипячение, 24ч;
c) CH<sub>3</sub>ONa/CH<sub>3</sub>OH или C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>ONa/C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, 120 <sup>0</sup>C, 8-24ч;
d) ClOCSCl, толуол, кипячение, 24ч; e) декалин, 200 <sup>0</sup>C, 20 мин

Их синтез основан на реакции 3-(2'-бромацетил)пиридина или его бромпроизводного с различными тиоамидами при нагревании в ДМФА в присутствии основания. Алкоксизамещенные аналоги были получены из соответствующих галогенидов и алкоголятов натрия.

Наиболее активными оказались соединения (**10a**) и (**10f**) – их величины IC<sub>50</sub> были на 3 порядка меньше по сравнению с ресвератролом и имели тот же порядок, что и соответствующие величины известных ингибиторов ароматазы.

Кроме того, получен ряд 2,4-дизамещенных тиазолов в качестве потенциальных индукторов хинонредуктазы:



Наилучшую активность проявили метоксизамещенные производные (**12е,o,n**). Приэтом замена тиазольного линкера на оксадиазольный или тиадиазольный привела к некоторому ослаблению свойств.

Еще одна серия производных тиазола была синтезирована из тиоамида пиримидин-2-карбоновой кислоты [24]:



Соединения (**13а,g,h,m,o,u**) оказались наилучшими ингибиторами ароматазы, причем часть из них проявила выраженное цитотоксическое действие в отношении раковых клеток, не влияя на здоровые.

Несколько иной подход к модификации структуры ресвератрола продемонстрирован в работе [25] – характер замещения бензольных колец был таким же, что и в ресвератроле, а двойная связь заменена на различные гетероциклы.

Ключевой стадией в синтезе соединения (14) была реакция взаимодействия алкина с генерируемым in situ N-гидроксимидоилхлоридом. Для получения производного пиррола проводили конденсацию дикарбонильного соединения с метиламином. Синтез аналогов (16а), (17а,b) осуществляли на основе реакции Сузуки. Затем метоксизамещенные аналоги подвергались деметилированию при действии BBr<sub>3</sub>.

Аналоги (**17с,d**) оказались более активны по сравнению с ресвератролом против вируса ВИЧ-1.



a) 1. NH<sub>2</sub>OH\*HCl, NaHCO<sub>3</sub>, 2. NCS; b) 1. NaN<sub>3</sub>, CuSO<sub>4</sub>; 2. BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 20 <sup>0</sup>C, 20ч;
c) 3,5-диметоксибензальдегид, NEt<sub>3</sub>; d) 1. NH<sub>2</sub>CH<sub>3</sub>\*HCl, CH<sub>3</sub>COOH, p-TsOH, 2. BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 20 <sup>0</sup>C, 20ч



a) Pd(PPh<sub>3</sub>)<sub>4</sub>, Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, толуол/C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, кипячение, 6ч; b) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 20 <sup>0</sup>C, 20ч

Известны примеры получения аналогов *цис*-ресвератрола в качестве противораковых средств. Так, производные 2,3-тиазолидинона-4 получены взаимодействием замещенных анилинов и бензальдегидов с тиогликолевой кислотой в присутствии DCC [26]:



a) HSCH<sub>2</sub>COOH, DCC, ТГФ, 0 - 20 <sup>0</sup>C, 1ч

Реакция иминов, полученных из анилинов и бензальдегидов, с 2хлорацетилхлоридом привела к образованию производных 3хлоразетидинона-2 [27].



а) толуол, кипячение, 16ч; b) NEt<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 <sup>0</sup>C, 16ч

Наибольший антипролиферативный эффект в отношении раковых клеток выявлен у соединений (**18b,h,j,k,l**), (**19d,f**).

Известны примеры получения аналогов ресвератрола с конденсированными гетероциклами. Например, описаны некоторые бензоселенофены, синтезированные на основе ресвератрола [28]. Предполагается, что сначала происходит электрофильное замещение с участием SeCl<sub>2</sub>, затем – электрофильное присоединение по двойной связи с последующим отщеплением молекулы HCl. Образующийся бензоселенофен при наличии избытка SO<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> подвергается моно- и дихлорированию:

Бензоселенофены (**20**) показали лучшую по сравнению с ресвератролом антиоксидантную активность, в том числе при индуцированном окислительном стрессе в клетках миофибробластах и остеоцитах [29]. Причем, согласно квантово-химическим расчетам, наиболее активны гидроксильные группы резорцинового фрагмента [28].



В работе [30] описан синтез некоторых конденсированных гетероциклов в качестве противоопухолевых и сосудорасширяющих средств. Производные хинолина были получены взаимодействием амида с POCl<sub>3</sub> и ДМФА с образованием хинолина (**21a**). После удаления метильных групп был получен хинолин (**21b**), восстановление которого привело к производному (**21c**).



a) 1. SOCl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 60 <sup>o</sup>C, 4ч; 2. *о*-анизидин, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, DMAP, PS-DIEA, 20 <sup>o</sup>C, 16ч; b) POCl<sub>3</sub>, ДМФА, 75 <sup>o</sup>C, 1,5ч; c) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 - 20 <sup>o</sup>C, 16ч; d) H<sub>2</sub>, Pd/C, NEt<sub>3</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, 24ч

Взаимодействием 3,5-диметоксибензойной кислоты и фосфониевой соли получен фуран (**22a**), который далее подвергали деметилированию:



a) NaBH<sub>4</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, 20 <sup>0</sup>C, 1ч; b) PPh<sub>3</sub>\*HBr, CH<sub>3</sub>CN, кипячение, 1ч;
c) 1. 3,5-диметоксибензойная кислота, DCC, DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 16ч; 2. NEt<sub>3</sub>, диоксан, кипячение, 16ч; d) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 - 20 <sup>0</sup>C, 16ч

Для получения бензотиазолов амиды сначала конвертировали в их тиоаналоги, которые затем под действием K<sub>3</sub>[Fe(CN)<sub>6</sub>] претерпевали окислительную циклизацию:



a) 1. DMAP, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, PS-DIEA, 20 <sup>o</sup>C, 16ч; 2. Реагент Лоуссона, 130 <sup>o</sup>C, 3ч;
b) K<sub>3</sub>Fe(CN)<sub>6</sub>, NaOH, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, H<sub>2</sub>O, 85 <sup>o</sup>C, 30 мин, 20 <sup>o</sup>C, 16ч; с) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 <sup>o</sup>C, 16ч

Соединения (**23b,d,f,g**) в наибольшей степени снижали выживаемость раковых клеток, соединения (**23c,e,f,g,i**) показали сопоставимый с ресвератролом, хотя и несколько меньший, сосудорасширяющий эффект.

Уделено некоторое внимание и синтезу гибридных аналогов ресвератрола. В частности, в работе [31] описаны производные 3-фенилкумарина. Исследования показали наличие у соединений (**24е-h**) выраженного антиоксидантного потенциала. Для их получения сначала проводили конденсацию различных 2-гидроксибензальдегидов с фенилуксусными кислотами, а затем – кислотный гидролиз образующихся ацетокси-3-фенилкумаринов:



**24a:**  $R_1$ =OCOCH<sub>3</sub>,  $R_2$ = $R_3$ = $R_4$ =H **24b:**  $R_2$ =OCOCH<sub>3</sub>,  $R_1$ = $R_3$ = $R_4$ =H **24c:**  $R_3$ =OCOCH<sub>3</sub>,  $R_1$ = $R_2$ = $R_4$ =H **24c:**  $R_3$ =OCOCH<sub>3</sub>,  $R_1$ = $R_2$ = $R_4$ =H **24d:**  $R_2$ = $R_4$ =OCOCH<sub>3</sub>,  $R_1$ = $R_2$ = $R_4$ =H **24d:**  $R_2$ = $R_4$ =OCOCH<sub>3</sub>,  $R_1$ = $R_3$ =H **24d:**  $R_2$ = $R_4$ =OCOCH<sub>3</sub>,  $R_1$ = $R_3$ =H

a) CH<sub>3</sub>CO<sub>2</sub>K, Ac<sub>2</sub>O, кипячение, 16ч; b) HCl, CH<sub>3</sub>OH, H<sub>2</sub>O, кипячение, 4ч

## 1.2 Аналоги с заменой арильных фрагментов на гетероциклические структуры

Основными идеями такого направления трансформации структуры являются улучшение ADMET параметров и/или создание гибридных молекул с мультитаргетным действием, что особенно важно для заболеваний со сложным патогенезом.

Так с целью синтеза структурных аналогов ресвератрола, обладающих противовоспалительными свойствами и улучшенной биодоступностью, была проведена биоизостерная замена одного из бензольных колец на пирановый [32]. Для построения *транс*-олефинового скелета использовали реакцию Хорнера-Удсворта-Эммонса: илид на основе коевой кислоты реагировал с ароматическими альдегидами в присутствии NaH в качестве основания. Защитные группы удаляли обработкой BBr<sub>3</sub>:



a) PMB-Cl, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ДМФА, 80 °C; b) SOCl<sub>2</sub>, 2ч; c) P(OMe)<sub>3</sub>; d) ArCHO, NaH, ТГФ; e) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 12ч rt

Было оценено влияние полученных соединений на продукцию NO и простагландина E2 в клетках макрофагов клеточной линии RAW264.7. В целом, соединения демонстрировали сходный или несколько меньший уровень продукции NO по сравнению с ресвератролом. При этом, большинство соединений показали в 3-7 раз меньшую цитотоксичность, чем ресвератрол, что является следствием введения пиранового кольца. Гидроксизамещенные соединения (**25b**) и (**25c**) оказывали наиболее сильное ингибирующее влияние в отношении продуцирования PGE2 при сходном уровне ингибирования образования NO по сравнению с ресвератролом. Введение гетероциклов в структуры (**25f-h**) также сохраняло активность в отношении ингибирования продукции NO, но уменьшало эффекты ингибирования продукции PGE2.

Было показано, что аналогичные по структуре соединения, являющиеся гибридами 3-гидроксипиридинона-4 и ресвератрола [33], также проявляют хорошие антиоксидантные и металлхелатирующие свойства. В целом их синтез подобен описанному выше.



a) BnCl, MeOH, кипячение, 16ч; b) SOCl<sub>2</sub>, 2ч; c) PPh<sub>3</sub>, CHCl<sub>3</sub>, 24ч; d) NaOH; e) NH<sub>3</sub>·H<sub>2</sub>O;
 f) MeNH<sub>2</sub>; g) 6н HCl или BBr<sub>3</sub>.

Соединения (**29i**), (**30f**) продемонстрировали существенное ингибирующее влияние на самоиндуцированную или вызванную металлами (железо, медь) агрегацию β-амилоида (Аβ<sub>1-42</sub>).

Другой интересный подход основан на сочетании в молекуле фрагментов деферипрона и бензо(окс, ти, ди)азолов при сохранении структурного подобия ресвератролу [34]:



 a) PMB-Cl, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ДМФА, 80 °C; b) CH<sub>3</sub>NH<sub>2</sub>, H<sub>2</sub>O, кипячение; c) MnO<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>, кипячение; d) AcOH, Ac<sub>2</sub>O, MW; e) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, MeOH; f) NaH, TГΦ; g) CF<sub>3</sub>COOH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>.

Соединения (**31c**) и (**31i**) показали хорошие металлхелатирующие и антирадикальные свойства, ингибировали самоиндуцированную агрегацию Аβ<sub>1-42</sub>, а также проявили низкую цитотоксичность.

Аналоги ресвератрола, сочетающие в структуре конденсированные гетероциклы и метоксифенильные фрагменты, также могут рассматриваться в качестве противоопухолевых средств, как это показано в работе [35].



Наиболее активными в отношении большинства исследованных линий раковых клеток оказались производные (**33a,d,f,g**) с 3,4,5триметоксифенильным фрагментом, наиболее близкие по структуре к (E)-3,4,5,4'-тетраметоксистильбену (DMU-212).

Еще один вариант модификации структуры ресвератрола был реализован посредством введения фенольного фрагмента, присутствующего в αтокофероле [36]. Ключевой стадией получения структур (34) и (35) стала реакция Вадсворта-Эммонса между предварительно синтезированным альдегидом с хромановым остовом и соответствующей серии диэтилфосфонатов.



а) 2-метилбут-3-ен-2-ол, ТФУ; b) Br<sub>2</sub>; c) Ac<sub>2</sub>O, AcOH, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>;



Кинетические исследования позволили установить, что антиоксидантное действие синтезированных молекул согласуется с механизмом отрыва протона с последующим переносом электрона <u>Sequential proton loss electron</u> <u>transfer (SPLET)</u>, и при этом фиксируется существенный рост антирадикальной активности по сравнению с родительскими структурами.

На основе реакции кросс-сочетания были получены новые аналоги ресвератрола, содержащие пяти- и шестичленные нитроксиды и изоиндолиновые нитроксиды [37]:



a) K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, Pd(OAc)<sub>2</sub>, Bu<sub>4</sub>NBr, ДМФА; b) 1. аскорбиновая кислота, N<sub>2</sub>, диоксан, вода; 2. Et<sub>3</sub>N, AcCl; c) Fe, AcOH; d) 1. KOAc, Pd(OAc)<sub>2</sub>, Bu<sub>4</sub>NBr, ДМФА, 2. MeONa, MeOH.

Однако, исследования показали, что проведенная модификация не привела к росту антирадикальной активности относительно прототипа.

Также была предпринята попытка создания гибридной молекулы на основе ресвератрола и известного ингибитора полимеризации тубулина – 2анилинопиридин сульфонамида (Е7010) [38].



a) NaBH<sub>4</sub>, MeOH; b) PBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; c) PPh<sub>3</sub>, толуол; d) ArNH<sub>2</sub>, этиленгликоль;
e) N,О-диметилгидроксиламин, AlMe<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; f) DIBAL-H, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; g) NaH, TГФ

Исследование антипролиферативной активности соединений проводили на четырех раковых клеточных линиях человека (A549, HepG2, HeLa и Du145). В отношении клеточной линии HepG2 рака шейки матки человека производные (**39a**) и (**39k**) показали в 13 раз большую эффективность по сравнению с ресвератролом и сопоставимую с E7010. Установлено, что наблюдаемые эффекты соединений (**39a**) и (**39k**) обусловлены взаимодействовием с колхициновым сайтом связывания, что приводило к ингибированию сборки тубулина, деполимеризации микротрубочки и останавке клеточного цикла в фазе  $G_2/M$ . Также они продемонстрировали высокую эффективность и селективность на панели линий раковых клеток человека NCI 60.

Антимитотическая активность оценивалась и для стирилхиназолиновых аналогов [39], синтезированных в условиях реакции Кнёвенагеля по схеме 7 [40]:



 $\begin{array}{l} \textbf{40a:} R_1 = R_2 = R_3 = OH, \ R_4 = H \\ \textbf{40b:} R_1 = R_4 = H, \ R_2 = R_3 = OH \\ \textbf{40c:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_3 = OH, \ R_4 = H \\ \textbf{40d:} R_1 = R_3 = OMe, \ R_2 = OH, \ R_4 = H \\ \textbf{40e:} R_1 = R_4 = H, \ R_2 = R_3 = OAc \\ \textbf{40f:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_3 = OAc, \ R_4 = H \\ \textbf{40g:} R_1 = R_2 = R_3 = OAc, \ R_4 = H \\ \textbf{40g:} R_1 = R_2 = R_3 = OAc, \ R_4 = H \\ \textbf{40h:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = H, \ R_3 = OH \\ \textbf{40i:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = H, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40i:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = H, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40i:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = H, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40i:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = H, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40i:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = H, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40i:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = H, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40i:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = Br, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = Br, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = Br, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = Br, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = Br, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = Br, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = Br, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = Br, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = Br, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = Br, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = Br, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = Br, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_2 = R_4 = Br, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OMe, \ R_3 = OAc \\ \textbf{40k:} R_1 = OAc \\ \textbf{{40k:} R_1 = OAc \\ \textbf{{40k:} R_1 = OAc \\ \textbf{{40k$ 

Подавляющее большинство полученных производных показало ингибирующую активность по отношению к трем раковым клеточным линиям HeLa, HL-60 и A549, более выраженную, чем у ресвератрола. Наиболее активным оказалось соединение (**40g**), проявляющее в концентрациях 2-10  $\mu$ M цитостатический, а в концентрации 10  $\mu$ M – цитоцидный эффект в отношении клеток рака шейки матки человека HeLa. Исследования показали, что один из механизмов, обусловливающих данные эффекты, является генерация соединением (**40g**) АФК [41].

Серия гибридных молекул, содержащих хинолиновый фрагмент была получена по синтетической схеме, в основу которой положена реакция Виттига [42].



**41a:** R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=R<sub>5</sub>=R<sub>6</sub>=H, R<sub>3</sub>=CF<sub>3</sub> **41i:** R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>=R<sub>6</sub>=H, R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=CF<sub>3</sub>, R<sub>5</sub>=OMe **41b:** R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=R<sub>5</sub>=R<sub>6</sub>=H, R<sub>3</sub>=F **41j:** R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>=R<sub>5</sub>=R<sub>6</sub>=H, R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=CF<sub>3</sub> **41c:** R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=R<sub>5</sub>=H, R<sub>3</sub>=CF<sub>3</sub>, R<sub>6</sub>=CI **41k:** R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>=R<sub>5</sub>=H, R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=CF<sub>3</sub>, R<sub>6</sub>=CI **41d:** R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=R<sub>5</sub>=H, R<sub>3</sub>=F, R<sub>6</sub>=CI **41I:** R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>=CF<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=R<sub>5</sub>=R<sub>6</sub>=H **41e:** R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=R<sub>6</sub>=H, R<sub>3</sub>=CF<sub>3</sub>, R<sub>5</sub>=OMe **41m:** R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>=CF<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=R<sub>6</sub>=H, R<sub>5</sub>=OMe **41f:** R<sub>1</sub>=R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=R<sub>6</sub>=H, R<sub>3</sub>=F, R<sub>5</sub>=OMe **41n:** R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>=H, R<sub>2</sub>=R<sub>4</sub>=CF<sub>3</sub>, R<sub>5</sub>+R<sub>6</sub>=-OCH<sub>2</sub>O-**41g:** R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>=R<sub>4</sub>=R<sub>5</sub>=R<sub>6</sub>=H, R<sub>2</sub>=CF<sub>3</sub> **41o:** R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>=R<sub>4</sub>=H, R<sub>2</sub>=CF<sub>3</sub>, R<sub>5</sub>+R<sub>6</sub>=-OCH<sub>2</sub>O-**41h:** R<sub>1</sub>=R<sub>3</sub>=R<sub>4</sub>=R<sub>6</sub>=H, R<sub>2</sub>=CF<sub>3</sub>, R<sub>5</sub>=OMe **41p:** R<sub>1</sub>=CF<sub>3</sub>, R<sub>2</sub>=R<sub>3</sub>=R<sub>4</sub>=R<sub>6</sub>=H, R<sub>5</sub>=OMe a) PPh<sub>3</sub>, PhMe, кипячение; b) HCl, Ac<sub>2</sub>O, rt; c) POCl<sub>3</sub>: ДМФА 3:1, 0 – 90 °C; d) NaOH, ДМСО, 20 °C.

Исследования активности, проведенные на четырех клеточных линиях (HeLa, MDA-MB231, MCF7 и MDA-MB468), показали, что производные (**41g,h,p**) в виде Z-изомеров не только обладали достаточно мощным антипролиферативным эффектом (IC<sub>50</sub> <4 мM), но и показывали приблизительно двукратную селективность в отношении раковых клеток по сравнению с нормальными клетками. Соединение (**41b**) в виде *E*-изомера проявило высокую активность только в отношении MDA-MB468 (IC<sub>50</sub> = 0,12 мM), вызывая значительное повреждение ДНК.

С целью повышения эффективности противоопухолевой терапии предпринимаются попытки совмещения высокой цитотоксической активности со способностью подавлять опухолевый ангиогенез и экспрессию генов, связанных с активацией теломеразы. Так по реакции Хека был синтезирован ряд пиридиновых и пиримидиновых аналогов ресвератрола [43]:



Соединения (**42с,е,g,h,i**) демонстрировали более низкие значения IC<sub>50</sub>, чем ресвератрол, в отношении опухолевой клеточной линии HT-29 и имели более высокие значения IC<sub>50</sub> при исследовании на неопухолевой клеточной линии HEK-293. Наиболее активными оказались метоксизамещенные соединения (**42g–i**), содержащие 4-пиридинильное кольцо. Кроме того, соединение (**42g**) проявило способность снижать образование белка VEGF и экспрессию гена hTERT в концентрациях ниже значения IC<sub>50</sub> по отношению к неопухолевым клеткам HEK-293. Однако, гидроксизамещенные аналоги (**43a-c**) не проявили выраженной активности, в частности, соединение (**43c**) проявило посредственную цитотоксичность на уровне ресвератрола по отношению к клеткам рака поджелудочной железы [44].

Одной из перспективных мишеней для создания противоопухолевых средств является лизинспецифическая гистондеметилаза (LSD1) – фермент, играющий важную роль в росте и дифференцировке клеток, избыточная экспрессия которого наблюдается при многих типах злокачественных новообразований и связывается с началом и прогрессированием роста опухоли. Было показано, что ресвератрол проявляет сильное ингибирующее влияние на активность LSD1, более выраженное, чем у известного ингибитора – *mpaнc*-2-фенилциклопропиламина [45]. На основе структуры ресвератрола были предприняты попытки создания новых обратимых ингибиторов LSD1 [46, 47], синтез которых основан на реакции Вадсворта-Эммонса:



a) t-BuOH, t-BuOK, 0°C-25°C, 1ч; b) t-BuOK, ДМФА, 0°C-25°C, 0,5-3ч; c) NH<sub>2</sub>OH·HCl, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>3</sub>OH, кипячение, 5-6ч; d) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -35 – (20) °C, 16ч

В результате испытаний было выявлено несколько соединений, эффективно ингибирующих LSD1. Соединение (**45c**) оказалось наиболее сильным обратимым ингибитором LSD1 (IC<sub>50</sub> = 283 нМ).

Было установлено, что в присутствии эстрадиола ресвератрол действует как антиэстроген и таким образом должен оказывать положительное влияние при химиотерапии рака молочной железы [48]. Были предложены новые структуры, сочетающие в себе защищенный пиридоксиновый фрагмент и остов ресвератрола [49-51].



a) (CH<sub>3</sub>)<sub>2</sub>CO, H<sup>+</sup>, b) H<sub>2</sub>O, HCHO, NaOH, 70°C; c) SOCl<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> или PhCH<sub>3</sub>, кипячение;
d) PPh<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>CN, кипячение; e) ArCHO, NaH, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> или ТГФ; f) ArCHO, Et<sub>3</sub>N, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, кипячение; g) P(OEt)<sub>3</sub>, кипячение

Аналоги (*E*-**48b**) и (*E*-**48c**) не обладали цитотоксичностью как по отношению к опухолевым (MCF-7, SNB-19 и HCT-15), так и нормальным (HEK- 293) клеточным линиям, в то время как соединение (*E*-**48a**) оказывало более существенное влияние на клетки НЕК-293, чем на опухолевые клетки. Наиболее персептивными оказались соединения (*E*-**47b**) и (*E*-**47c**), продемонстрировавшие высокую селективную эффективность в отношении эстрогензависимой клеточной линии МСГ-7 рака молочной железы (IC<sub>50</sub> в диапазоне 1.9-7.9 μM).

Еще одна серия многофункциональных агентов представляющих собой пиридоксин-ресвератрольные гибриды и полученные на их базе основания Манниха, была синтезирована в работе [52]:



а) 10% HCl, ТГФ, 70 °C, 3 ч; b) амин, параформ, EtOH, кипячение

Все исследованные соединения показали хорошие антиоксидантные и металлхелатообразующие свойства, что важно при создании многофункциональных агентов для лечения болезни Альцгеймера.

В исследовании [53] были синтезированы соединения, нацеленные на терапию болезни Альцгеймера путем объединения фармакофоров ресвератрола и фрагмента известного хелатора металла – клиохинола.



a) 37% HCl, 37% HCHO, 0 °C  $\rightarrow$ 20 °C; b) P(OEt)<sub>3</sub>, кипячение; c) MOMCl, (i-Pr)<sub>2</sub>NEt, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, 0 °C  $\rightarrow$ 20 °C; c) PCC, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>; d) ArCHO, CH<sub>3</sub>ONa, ДМФА, 0 °C - 80 °C; e) 6 M HCl, CH<sub>3</sub>OH, кипячение; f) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -78 °C  $\rightarrow$ 20 °C.

Гибриды показали значительную способность ингибировать автоиндуцированную и индуцированную медью (II) агрегацию  $\beta$ -амилоида (А $\beta$ ), потенциальное антиоксидантное действие и хелатирующую способность. Соединение (**52c**) имело наиболее высокий потенциал ингибирования агрегации А $\beta$ , способствовало разборке хорошо структурированных фибрилл А $\beta$ . Кроме того соединение (**52c**) было способно контролировать продукцию гидроксильных радикалов за счет комплексообразования с ионами меди. Также для (**52c**) была продемонстрирована способность преодолевать гематоэнцефалический барьер.

Основываясь на данных о способности ресвератрола подавлять активацию макрофагов и контролировать экспрессию iNOS, в ряде работ были синтезированы его гетероциклические аналоги и было изучено их ингибирующее влияние в экспериментальной модели активации микроглии липополисахаридами [54, 55]:


a) P(OEt)<sub>3</sub>, кипячение, 3ч; b) PyCHO, NaOEt, ДМФА, 25°С, 3 ч, с) BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -10°С, 2ч;
d) ClCH<sub>2</sub>COOEt, KOH, ДМФА, 25°С, 4ч; е) NaOH, 25°С, 1ч, HCl

Было обнаружено, что соединения (**53**e,e,i) значительно ингибировали продукцию NO и TNF-α микроглией, а производное (**54**i) кроме того эффективно блокировало образование АФК.

В попытке создания более эффективных и безопасных противовосполительных средств в работе [56] были синтезированы и исследованы ранее описанные производные (54)-(56), ряд из которых были превращены в основания Манниха (57)-(59).



a) НСНО, морфолин, EtOH, кипячение 2ч

В испытаниях, проведенных на модели индуцированного ксилолом отека у мышей, наиболее активным соединением оказался ресвератрол, подавляющий индуцированный отек на 38,9%. Сравнимые результаты (37,0%) продемонстрировало соединение (**56c**). Другие производные (**56d**), (**58b**), (**59**) показали уменьшение отека в диапазоне от 30 до 35%.

#### 2 Обсуждение результатов

Как отмечалось в литературном обзоре, исходя из структуры молекулы ресвератрола, при создании ее синтетических аналогов можно выделить три ключевых направления трансформации: варьирование типа, числа и количества заместителей в стильбеновом остове; замена арильных фрагментов на биоизостерные гетероциклические структуры и модификация линкера, соединяющего бензольные кольца. Однако, с целью максимального сохранения положительных физиологических эффектов прототипа при создании аналогов следует учесть, что во взаимодействии с АФК основное участие в нативной молекуле принимает ОН-группа в положении 4' и что критически важным для проявления эффективных антиоксидантных свойств является наличие сопряжения между ароматическими фрагментами структуры. Желательным также является фиксация более активной Е-конфигурации молекулы и сохранение общей геометрии системы с учетом расположения ключевых фармакофорных центров. На основании этого и исходя из цели работы были реализованы следующие структурные трансформации (рис. 1): а) биоизостерная замена бензольного кольца пиридиновым фрагментом с сохранением позиции ОН-группы относительно этиленового линкера, b) дополнительная трансформация линкера с целью жесткой фиксации Е-конфигурации, с) параллельное варьирование положения и числа гидроксильных групп в фенильном фрагменте.



## Рисунок 1. Структурные трансформации ресвератрола

Суперпозиции остова ресвератрола и рассматриваемых молекул на примере производных (1г) – (4г), выполненные путем наложения по трем атомам кислорода гидроксильных групп [57] показывают их существенное пространственное сходство (рис. 2).



Рисунок 2. Суперпозиция структур (1г) - (4г) со структурой ресвератрола

На это указывают значения минимальных среднеквадратичных отклонений (RMSD) между структурами, которые существенно ниже 1 Å. Близкие геометрические параметры повышают вероятность взаимодействия рассматриваемых структур с теми же молекулярными мишенями, что и природный прототип.

Выбор фрагмента пиридинола-3 в качестве лейтмотива рассматриваемых аналогов продиктован несколькими соображениями:

1. Замена группы СН на атом N в ароматических и гетероароматических системах традиционно считается классической биоизостерной заменой, которая оказывает существенное влияние на физико-химические свойства и часто приводит к улучшению ключевых фармакологических параметров аналога по отношению к родоначальной структуре [58]. С одной стороны, такая замена не оказывает существенного влияния на резонансную стабилизацию ароматической системы, молекулярную массу, Ван-дер-Ваальсов радиус, и, в тоже время, приводит к перераспределению электронной плотности в системе, появлению в молекуле сильного акцептора водородной связи (с физиологически значимым показателем основности), увеличению площади полярной поверхности, снижению липофильности и повышению водорастворимости. Последнее весьма важно в связи с отмечавшимися в литературном обзоре проблемами биодоступности ресвератрола (29,8% в дозе 50 мг/кг для крыс) [59], обусловленными, в том числе, низкой водорастворимостю (<0.05 мг/мл) и метаболической нестабильностью. Присутствие в структуре пиридинового атома азота должно способствовать не только повышению водорастворимости, но и отчасти устранить вторую причину низкой биодоступности ресвератрола – быстрый и интенсивный метаболизм в кишечнике и печени во время и после абсорбции.

2. Одной из важнейших задач в области химии антиоксидантов является поиск новых соединений, для которых константа скорости ингибирования радикального процесса приближалась бы к диффузионно-контролируемому пределу. В случае фенольных антиоксидантов (к которым относится ресвератрол) основная сложность состоит в том, чтобы при значительном снижении энергии диссоциации связи О–Н (ВDE<sub>O-H</sub>) (важнейшее условие повышения активности антиоксиданта) не допустить параллельного снижения величины потенциала ионизации соединения до значений, при которых становится возможным прямое взаимодействие соединения с молекулярным кислородом (т.е. прямой прооксидантный эффект). Проблема состоит в том, что основной поход к снижению BDE<sub>O-H</sub> основывается на введении в бензольное кольцо (особенно в *пара*-положение к группе OH) сильных электронодонорных групп (гидроксильных, метоксильных, аминных), что приводит к увеличению

реакционной способности молекулы по отношению к свободным радикалам, но неминуемо вызовет нежелательное снижение потенциала ионизации за счет повышения энергии B3MO. Решение данной проблемы становится возможным при переходе от фенольных субстратов к производным 3гидроксипиридина. Было установлено, что такая замена приводит к увеличению потенциала ионизации более чем на 10 ккал/моль при росте энергии диссоциации связи О-Н всего на 1,1 ккал/моль [60]. Наличие электронодефицитного пиридинового кольца позволяет ввести в структуру антиоксиданта донорные группы (включая самую мощную диалкиламиную), существенно увеличивающие их ингибирующую активность без повышения окисляемости кислородом.

3. Замена фенольного фрагмента ресвератрола 3-гидроксипиридиновым приводит к созданию «гибридной» структуры. Производные пиридинола-3 зарекомендовали себя в качестве эффективных антиоксидантов, в том числе применяемых в клинической практике (Эмоксипин, Мексидол – производные 2-этил-6-метилпиридинола-3). Для них показана возможность ингибировать процессы с участием АФК не только путем обрыва радикальной цепи (за счет фенольной структуры), но посредством противопероксидной активности (с участием пиридинового атома азота) [61].

4. Алкилирование азота в исследуемых структурах приводит к образованию катионного центра – вектора для доставки соединений в митохондрии – одного из ключевых источников АФК в клетках. В литературе имеются успешные примеры использования пиридиниевых производных в качестве митохондриально направленных транспортеров [62].

# 2.1 Теоретическая оценка ADME параметров исследуемых аналогов

Оценка характеристик ADME (<u>A</u>bsorption, <u>D</u>istribution, <u>M</u>etabolism, <u>E</u>xcretion) имеет чрезвычайно важное значение при разработке лекарственных веществ, напрямую влияя на их эффективность *in vivo*. Параметры ADME наряду с показателями физиологической активности определяют эффективную дозу лекарственного средства. Отметим, что физиологически активные вещества с низкими эффективными дозами важны с клинической точки зрения, поскольку необходимость высоких доз препарата приводит к ряду серьезных проблем (сложности составления рецептур, увеличению частоты приема и/или количества принимаемых таблеток и, как следствие, риску развития токсических эффектов и снижению приверженности пациента лечению). Так, показывая хорошую эффективность в низких концентрациях в *in vitro* экспериментах, ресвератрол, в связи с плохой биодоступностью, используется в клинических испытаниях в высоких дозах (до 5 г/сут, стандартно 100– 1000 мг), при которых начинают проявляться его побочные эффекты [63].

Одним из ключевых параметров, определяющих характеристики ADME, оказывается липофильность, которая является результатом баланса гидрофобных свойств (гидрофобные силы, дисперсионные и Ван-дер-Ваальсовы взаимодействия), способствующих распределению в липофильной фазе, и полярных/ионных свойств (водородные связи, ионные взаимодействия), способствующих распределению в водной среде посредством энергетически выгодной сольватации [64]. От липофильности зависят не только водорастворимость и проницаемость соединений через липидные мембраны, но их сродство к белковым мишеням, поскольку большинство сайтов связывания белков, пригодных для взаимодействия с молекулой лекарственного средства, содержат по меньшей мере один гидрофобный карман или целую гидрофобную область. В водной среде липофильная молекула имеет упорядоченную сольватную оболочку. При перемещении этой молекулы из воды в более липофильную среду происходит рост энтропии за счет увеличения степеней свободы для высвобождаемых из сольватной оболочки молекул воды. Кроме того, увеличение липофильности лиганда снижает энтальпию десольватации. Таким образом, и энтальпийный и энтропийный факторы способствуют лучшему связыванию более липофильных молекул с активными центрами белковых мишеней. Клиренс лекарственных соедине-

ний также часто коррелирует с липофильностью. Снижение клиренса в случае менее липофильных соединений можно объяснить их более низким сродством к белкам, ответственным за метаболизм, снижением проницаемости гепатоцитов и рядом других факторов. Например, часто успешной тактикой улучшения метаболической стабильности является снижение липофильности. С другой стороны, для низкомолекулярных гидрофильных молекул высока вероятность усиления почечного клиренса.

Резюмируя вышеизложенное, можно отметить, что липофильность оказывает разнонаправленное влияние на отдельные параметры ADME, поэтому чрезвычайно важным является определение оптимального диапазона липофильности, в котором свойства молекулы будут подходящими как в плане активности, так и биодоступности. Главным дескриптором липофильности является log D, который отражает распределение растворенного вещества между водной и октанольной фазами при pH = 7.4, то есть с учетом физиологически значимой ионизации. Многочисленные исследования показывают, что для пероральных лекарственных средств приемлемым оказывается диапазон log D от 1 до 3. При этом верхний и нижний пределы идеальной липофильности ограничены, прежде всего, метаболическим клиренсом и мембранной проницаемостью, соответственно (рис. 3).



Рисунок 3. Связь ряда ADME характеристик в величиной log D

Таким образом, направление модулирование липофильности аналогов ресвератрола для улучшения ADME свойств является удобной стратегией, поскольку липофильность можно предсказать с помощью вычислений. Нами были проведены подобные расчеты посредством ресурса ADMETlab 2.0 [65]. Их результаты представлены в таблице 1.

Отметим, что полученное значение log  $D_{7,4} = 3,36$  для ресвератрола несколько выходит за оптимальный интервал, создавая известные проблемы с водоратворимостью и, вероятно, увеличивая метаболический клиренс. В тоже время, для исследуемых аналогов параметры липофильности укладываются в приемлемый диапазон (исключение составляет соединение (**2**д)), что положительно сказывается на их водорастворимости, расчетные величины которой в большинстве случаев на порядок превышают значения для природного прототипа и позволяют отнести их к соединениям с хорошей растворимостью (в случае потенциальных лекарственных средств таковыми являются соединения с растворимостью более 100 µM [66]).

Липофильность сильно влияет на пассивную проницаемость мембран, которая необходима для перорального всасывания и доступа лекарства во внутриклеточные компартменты и проникновения в ткани. Еще одним параметром, часто используемым в медицинской химии при оценке трансмембранного переноса, является топологическая площадь полярной поверхности (tPSA). Молекулы с tPSA более 140 Å, как правило, плохо проникают через клеточные мембраны [67], а для преодоления гематоэнцефалического барьера обычно требуется уровень tPSA < 90 Å [68]. Из данных таблицы 1 следует, что все рассматриваемые соединения обладают tPSA < 140 Å, т.е. не должны иметь проблем с процессом абсорбции, а для ряда производных можно говорить о способности к проникновению в ЦНС.

Удобным и наглядным методом прогнозирования пассивного всасывания в желудочно-кишечном тракте и преодоления гематоэнцефалического барьера является модель BOILED -Egg [69], в которой путем сопоставления параметров tPSA и липофильности выделяются области, ограниченные окружностью и эллипсом, в пределах которых располагаются соединения, обладающие способностью эффективно проникать в ЦНС и активно сорбироваться в ЖКТ, соответственно.

	Физико-химические характеристики				Абсорбция		Распределение			Метаболизм		Экскре-
Соеди- нение	tPSA, Å	logD <sub>7,4</sub>	LogS	Раство- римость, µМ	Caco-2	MDCK, см/с	BBB	PPB, %	V <sub>D</sub> , л	Ингибитор	Субстрат	ция CL, мл/мин/ кг
Pec	60.69	3.36	-4.07	84.4	-4.916	1.43.10-5	0.032	97.2	57.5	CYP1A2,CYP3A4		15.7
1a	33.12	3.06	-3.15	704	-4.727	$2.52 \cdot 10^{-5}$	0.369	95.4	100.7		CYP2C9, CYP2D6	12.6
16	53.35	2.58	-3.21	611	-4.718	$1.65 \cdot 10^{-5}$	0.067	94.6	84.6	CYP1A2		15.7
1в	73.58	2.32	-3.27	543	-4.832	1.42.10-5	0.032	95.6	52.4			17.8
1г	73.58	2.36	-3.27	543	-4.874	1.31.10-5	0.031	93.5	59.5	CYP1A2,CYP3A4		14.9
1д	93.81	1.55	-3.33	471	-4.994	1.12.10-5	0.019	96.2	41.8	CYP1A2		17.1
2a	33.12	2.51	-4.01	96.9	-4.677	2.99·10 <sup>-5</sup>	0.485	92.8	57.1	CYP1A2,CYP2C19,	_	5.9
26	53.35	1.85	-4.08	84.1	-4.82	1.64.10-5	0.211	91.2	48.0	CYP2D6	CYP2C9	8.3
2в	73.58	1.51	-4.13	74.7	-4.933	1.01.10-5	0.065	92.3	32.7			11.2
2г	73.58	1.66	-4.13	74.7	-5.014	7.60.10-6	0.073	82.5	66.4	CYP1A2,CYP2D6		8.6
2д	93.81	0.85	-4.19	64.8	-5.130	5.34·10 <sup>-6</sup>	0.022	92.9	32.8			11.1
<b>3</b> a	50.94	2.94	-2.95	1130	-4.555	2.51.10-5	0.537	90.4	96.4	CYP1A2,CYP2C19, CYP2D6	—	11.5
36	71.17	2.48	-3.01	984	-4.622	$1.02 \cdot 10^{-5}$	0.08	88.3	72.5		CYP2C9	13.7
3в	91.40	2.11	-3.06	874	-4.784	8.10.10-6	0.043	91.3	57.2			15.8
3г	91.40	2.30	-3.06	874	-4.801	4.81.10-6	0.04	83.7	61.5	CIFIA2,CIFJA4		13.2
3д	111.63	1.36	-3.12	759	-5.140	$5.44 \cdot 10^{-6}$	0.021	93.0	49.4		_	15.1
<b>4</b> a	61.80	2.94	-2.99	1030	-4.775	$2.52 \cdot 10^{-5}$	0.317	92.7	56.6	CYP1A2	CYP1A2	11.1
46	82.03	2.58	-3.04	916	-4.772	9.68·10 <sup>-6</sup>	0.056	93.2	46.1			12.3
4в	102.26	2.24	-3.10	795	-4.891	7.23.10-6	0.034	93.1	40.7	CYP1A2,CYP3A4	CYP2C9	14.5
4Γ	102.26	2.46	-3.10	795	-4.935	5.12.10-6	0.044	89.3	53.2			12.2
4д	122.49	1.69	-3.15	707	-5.142	$5.40 \cdot 10^{-6}$	0.018	91.6	42.9	CYP1A2	—	14.0

Таблица 1. Расчетные значения ADME характеристик ресвератрола и его аналогов (1)- (4)

Анализ рисунка 4 подтверждает выводы о процессе абсорбции, сделанные на основе численных значений.





В фармацевтической промышленности для прогнозирования всасывания перорально вводимых лекарств в качестве *in vitro* модели слизистой оболочки тонкого кишечника часто используется иммортализованная линия клеток колоректальной аденокарциномы человека (Сасо-2), кажущейся проницаемость через клеточные монослои которой хорошо коррелирует с параметрами абсорбции *in vivo*. [70]. В настоящее время параметр проницаемости в логарифмических единицах может быть получен расчетным путем, без проведения эксперимента. Его значения, вычисленные с использованием ресурса SwissADME [71], приведены в таблице 1. В целом, полученные величины лежат в районе -5 ед., что рассматривается в качестве оптимума. Еще одной модельной клеточной линией, используемой в биомедицинских исследованиях абсорбционных свойств соединений, является MDCK (Клетки Madin-Darby Canine Kidney). Вычисленные параметры проницаемости также свидетельствуют о потенциально хорошей абсорбции исследуемых молекул (значения выше  $2 \cdot 10^{-6}$  см/с).

Оценивая параметры распределения, можно отметить, что из-за своего липофильного статуса ресвератрол показывает достаточно высокий кажущийся объем распространения (по разным данным от 73 до 1150 л). Даже если эти значения реально несколько меньше, то были проведены многочисленные исследования на животных, которые свидетельствуют об его обнаружении в таких органах, как печень, кишечник, мозг и жировая ткань [72]. Представленные в таблице 1 расчетные значения V<sub>D</sub> также свидетельствуют, что ревератрол и его аналоги должны активно распределяться во внеклеточной и внутриклеточной жидкости, а в некоторых случаях частично депонироваться в тканях.

Эффективность препаратов также зависит от их степени связывания с белками плазмы крови. Желательно, чтобы этот показатель был менее 95 %. Данные расчета PPB (Plasma Protein Binding) свидетельствуют о достаточно высоких величинах связывания, однако все синтетические аналоги по сравнению с ресвератролом имеют меньшие показатели.

С использованием программы FAME 3 [73] было проведено сопоставление метаболической активности для ресвератрола и серии аналогов (1а)-(1г) содержащих эквивалентное количество гидроксильных групп (рис. 5).

В целом в рассматриваемом ряду прослеживается тенденция к уменьшению центров, подверженных метаболизму, и уменьшению его вероятности, т.е. к большей метаболической стабильности исследуемых аналогов (особенно с остовами **3** и **4**), что согласуется с тактикой улучшения метаболической стабильности путем снижения log D и отражается в том числе в понижении несвязанного клиренса.



Рисунок 5. Вероятностная оценка метаболической трансформации ресвератрола и однотипно гидроксилированных синтетических аналогов (1г) – (4г)

Таким образом, результаты проведенных расчетов указывают на улучшение показателей ADME для предлагаемых гетероциклических аналогов в сравнении с нативной структурой.

#### 2.2 Теоретическая оценка токсичности исследуемых соединений

При разработке новых лекарственных средств важное значение имеет не только прогнозирование ADME характеристик, но и получение первичных сведений об их потенциальной токсичности. С этой целью для разрабатываемых молекул с помощью *on line* версии программы GUSAR [74] был осуществлен *in silico* прогноз значений LD<sub>50</sub> для крыс при четырех видах введения (пероральный, внутривенный, внутрибрюшинный, подкожный, ингаляционный). Оценка токсичности в программе GUSAR осуществляется на базе QSAR моделей, обучающие наборы для которых были созданы на основе сведений из базы данных токсичности SYMYX MDL, включающей информацию о токсических эффектах примерно для 10 000 химических структур.

Полученные результаты, представленные значениями LD<sub>50</sub> (lg (ммоль/кг)), приведены в таблице 2. Их анализ показывает, что по параметрам острой токсичности, согласно гармонизированной системе классификации опасности и маркировки химической продукции (GHS) исследуемые соединения относятся к 4-5 категории острой токсичности, т.е. являются умеренно или малоопасными.

При этом значения величин токсичности при ключевых способах введения (пероральном и внутривенном) практически не коррелируют между собой (см. рис. 6).

Прогноз пероральной токсичности не показывает существенного ее различия при переходе от ресвератрола к стильбазольным аналогам (1)-(2), в то время как производные с гетероциклическим линкером (3) и (4) демонстрируют достоверный рост токсичности. Во всех случаях не просматривается явной однотипной зависимости токсичности от числа и положения гидроксильных групп.

	Путь введения							
Соединение	Внутрибрюшин-	Внутривен-	Перораль-	Подкож-	опасно-			
	ный	ный	ный	ный	сти			
Ресвера- трол	0.565	-0.223	1.096	0.905	5			
1a	0.270	-0.314	1.208	0.823	4			
16	0.312	-0.259	1.286	0.806	4			
1в	0.520	-0.183	1.143	0.790	5			
1г	0.476	-0.141	1.163	0.907	5			
1д	0.536	-0.058	1.013	0.747	5			
2a	0.386	-0.441	1.108	0.891	5			
26	0.325	-0.362	1.092	0.837	5			
2в	0.276	-0.350	1.139	0.830	4			
2Γ	0.163	-0.246	1.154	0.835	4			
2д	0.451	-0.228	1.005	0.662	5			
<b>3</b> a	0.263	-0.436	0.459	0.238	4			
36	0.334	-0.296	0.517	0.447	4			
3в	0.460	-0.142	0.536	0.288	4			
3г	0.441	-0.118	0.484	0.206	4			
3д	0.261	0.018	0.571	-0.101	4			
<b>4</b> a	0.368	-0.415	0.591	0.197	4			
4б	0.302	-0.208	0.681	0.610	4			
4в	0.249	-0.256	0.569	0.451	4			
4Γ	0.395	-0.072	0.598	0.511	4			
4д	0.351	-0.218	0.611	0.199	4			

Таблица 2. Расчетная острая токсичность для крыс LD<sub>50</sub> (lg (ммоль/кг))

Совершенно иная картина наблюдается в прогнозе токсичности при внутривенном введении, где влияние остова молекул не выглядит столь очевидным, но прослеживается явная тенденция к снижению токсичности с ростом числа гидроксильных групп.

Корреляционный анализ с расчетными параметрами ADME показывает явную взаимосвязь пероральной токсичности с величиной растворимости в водной среде (R = 0.76), в то время как токсичность при внутривенном введении хорошо коррелирует с площадью полярной поверхности молекулы (R=0.72).





Рисунок 6. Расчетная острая токсичность для крыс LD<sub>50</sub> (lg (ммоль/кг))

# 2.3 Теоретическая оценка антиоксидантных свойств исследуемых аналогов

Для выявления закономерностей между структурой исследуемых соединений и их потенциальными антирадикальными и антиоксидантными свойствами, а так же с целью установления наиболее вероятных механизмов проявляемых эффектов нами была выполнена квантово-химическая оценка геометрических и электронных параметров аналогов (1) – (4), на основании которых были рассчитаны основные дескрипторы антиоксидантной активности.

Следует отметить, что по современным представлениям взаимодействие антиоксиданта с активными радикалами может протекать по нескольким альтернативным механизмам [75]:



(a) SET-PT (*Single-electron transfer followed by proton transfer*) – перенос электрона с антиоксиданта на активный радикал, с образованием катионрадикала и аниона с последующим переносом протона от катион радикала к аниону.

(b) НАТ (*Hydrogen atom transfer*) – прямой перенос атома водорода от антиоксиданта к активному радикалу.

(c) SPLET (*Sequential proton loss electron transfer*) – депротонирование антиоксиданта с последующим переносом электронов с полученного аниона к активному радикалу. Далее реализуется протонирование аниона, образовавшегося из активного радикала.

Если реализация первого механизма во многом определяется восстановительной активностью антиоксиданта, то для протекания НАТ и SPLET процессов важнейшую роль играет стабильность образующихся частиц ArO<sup>•</sup> или ArO<sup>-</sup>, определяющаяся, прежде всего, возможностью эффективной делокализаии электронной плотности в них. Таким образом, наиболее удобным дескриптором для оценки антиоксидантной активности по первому механизму является адиабатический потенциал ионизации (AIP) и, вероятно, энталь-

пия протонной диссоциации (PDE) для учета процесса переноса протона, а для второго процесса – энтальпия диссоциации связи (BDE). Что касается SPLET механизма, то его дескрипторами могут выступать сродство к протону (PA) и энтальпия электронного переноса (ETE), для оценки этапа переноса электрона. Кроме того, важным дескриптором, позволяющим оценить стабильность образующегося радикала ArO<sup>•</sup>, является распределение спиновой плотности и электронной плотности B3MO.

Все расчеты проводились с использованием программного пакета GAMESS (US) [76] и были выполнены для стандартных условий (298,15 К и 1,00 атм) в газовой фазе методом DFT с гибридным функционалом B3LYP [77]. Оптимизация геометрии исследуемых молекул проводилась поэтапно. Геометрия нейтральных молекул в их основных состояниях сначала была оптимизирована полуэмпирическим методом PM3, а затем с использованием ограниченного уровня теории B3LYP/6-31G. После этих процессов производился отбор наиболее благоприятных конформаций. На следующем этапе полученные геометрии были повторно оптимизированы в базисе 6-311G (d,p). Расчеты для радикалов, анионов и катион-радикалов были выполнены на основе полностью оптимизированных структур нейтральных молекул после отрыва Н-атома или протона от гидроксильных групп или после отрыва электронов. Поскольку радикалы, анионы и катион-радикалы представляют собой системы с открытой оболочкой, был применен неограниченный уровень теории B3LYP/6-311G (d,p) для их полной оптимизации. При оптимизации структуры радикалов и катион-радикалов следили за спиновым загрязнением. Значения квадрата общего спина находились в диапазоне 0.76-0.78, поэтому загрязнение не превышало 10%. На заключительном этапе для проверки стационарности полученных энергетических состояний были рассчитаны колебательные спектры для всех структур и проведена их оценка на отсутствие отрицательных частот. Расчетные значения энергии нулевой точки (ZPE) были нормированы с коэффициентом 0.9805 [78] и использованы для корректировки полных энергий.

Поскольку в случае соединений (1) – (3) возможно свободное вращение вокруг одинарной связи между пиридиновым и алкеновым (имидазольным) фрагментами, в результате которого пиридиновый атом азота может занимать две граничные позиции (рис. 7), для указанных структур был проведен конформационный анализ. Согласно расчетам для стильбазольных аналогов (1) и (2) из двух возможных вариантов ротамеры (1В) и (2В) с *анти*конфигурацией обладают большей стабильностью на 1-2 ккал/моль, что соответствует расчетным данным [79] и данным РСА [80] для незамещенного 2-стильбазола. Учитывая, что расстояние между атомами азота и водорода H<sup>b</sup> во всех структурах находится в интервале от 2.477 до 2.504 Å, можно предположить, что определенный вклад в стабилизацию ротамеров (**B**) вносит образование слабой водородной связи между указанными атомами [81].



Рисунок 7. Ротамеры для соединений (1а-г)-(3а-г) и таутомеры для соединений (4а-г)

В случае соединений (2) оценивалась также конформация этильного фрагмента. Было установлено, что наибольшей устойчивостью обладали

структуры с расположением группы CH<sub>3</sub> этильного фрагмента под углом ≈ 80° относительно пиридинового цикла.

Для структур (3) более стабильным оказался ротамер (А), однако в данном случае разница в энергиях (около 0.05 ккал/моль) не была столь значительной.

В случае структур (4) возможно существование двух таутомерных форм, из которых, по результатом расчета, более стабильной (на 3 ккал/моль) оказалась структура (4В).

Конформационный анализ соединений с катехоловыми и пирогаллоловыми фрагментами показал, что наиболее стабильными являются конформеры, в которых наблюдается образование внутримолекулярных водородных связей между гидроксильными группами, длина которых находится в диапазоне от 2.125 до 2.197 Å (рис. 8). Аналогичная ситуация наблюдалась и в случае соответствующих радикалов.



Рисунок 8. Формирование внутримолекулярных водородных связей

В дальнейшем все расчеты проводились для более стабильных конформеров и таутомеров.

Одним из основополагающих факторов антиоксидантной активности соединений является стабильность радикалов, образующихся при их взаимодействии с АФК. При этом критическим параметром стабильности свободного радикала является степень делокализации в нем спиновой плотности. Проведенные нами расчеты показывают, что во всех стильбазольных аналогах (1) и (2) с *пара*-расположением радикального центра относительно этиленового фрагмента спиновая плотность делокализуется по всей молекуле (см рис. 9). Оценка спиновой плотности в частицах с другим расположением радикального центра приведена в приложении А.



Рисунок 9. Распределение спиновой плотности

Кроме того, данные о плоской геометрии, длинах и порядках связей позволяют утверждать, что именно для радикалов, образующихся из гидроксилов, расположенных в *пара*-положениях относительно этиленового фрагмента, характерно формирование сильно резонансно стабилизированной семихиноновой структуры.



С другой стороны, при *мета*-расположении радикального центра относительно центрального алкенового фрагмента спиновая плотность делокализуется практически исключительно в пределах одного бензольного фрагмента.



Присутствие дополнительных гидроксильных групп по соседству с радикальным центром еще больше способствует делокализации, и, следовательно, стабилизации радикала за счет формирования водородных связей, что подтверждается величинами длин и порядков ОН-связей.

Следует отметить, что резонансная стабилизация существенно падает при переходе от стильбазольных аналогов (1) и (2) к имидазольным (3) и особенно к производным имидазо[4,5-*b*]пиридина (4). В последнем случае делокализация спиновой плотности оказывается минимальной (даже по сравнению с 2-этил-6-метилпиридинолом-3) и происходит практически исключительно в пределах ароматического фрагмента, связанного с радикальным центром (см. рис. 9).

На основе полученных данных о полных энергиях нами были вычислены основные дескрипторы для оценки антиоксидантной активности, значения которых представлены в таблице 3.

Соединение Гидроксил AIP BDE PDE PA ETE ресвератрол 5'-OH 155.224 76.497 339.347 235.211 50.905 ЭМГП 3-OH 183.325 79.492 47.777 211.337 346.886 4'-OH 8 159.352 77.138 231.637 337.898 52.995 1a 5-OH 160.656 76.423 229.618 336.138 54.040 5-OH 332.602 75.583 235.722 56.736 1б 153.833 4'-OH 76.269 236.409 334.205 55.819 5-OH 69.517 231.367 337.308 45.964 1в 3'-OH 152.180 72.244 234.094 330.297 55.702 4'-OH 68.087 229.937 325.334 56.508 5-OH 80.956 235.782 336.510 58.200 3'-OH 1г 159.058 235.449 340.821 53.556 80.623 5'-OH 81.031 235.858 340.562 54.224 5-OH 75.660 238.230 337.587 51.827 3'-OH 73.162 235.732 336.184 50.733 1д 151.558 4'-OH 47.490 60.991 223.560 327.255 5'-OH 73.003 235.573 49.853 336.904 2a 5-OH 159.102 75.227 231.297 334.809 55.589 2б 5-OH 74.460 236.445 336.526 53.104 153.185 4'-OH 77.034 239.020 340.391 51.814 2в 5-OH 74.339 237.766 335.780 53.730 3'-OH 151.744 73.292 236.719 337.139 51.324 4'-OH 68.932 232.359 332.231 51.872 5-OH 2г 75.437 231.877 334.090 56.517 3'-OH 158.731 83.757 240.197 348.743 50.185 5'-OH 82.557 238.997 347.998 49.730 5-OH 2д 74.496 238.226 335.784 53.882 3'-OH 73.695 51.290 237.426 337.575 151.440 4'-OH 63.704 227.435 328.075 50.800 5'-OH 74.430 238.161 336.858 52.743 3a 5-OH 163.327 80.299 232.142 333.969 61.500 3б 5-OH 79.925 239.654 334.504 60.591 155.441 4'-OH 78.081 237.810 348.801 44.450

**Таблица 3**. Значения дескрипторов антиоксидантной активности, рассчитанные методом B3LYP/6-311G(d,p) в газовой фазе (ккал/моль)

3в	5-OH		79.755	241.164	342.435	52.491
	3'-ОН	153.762	71.724	233.133	338.520	48.376
	4'-OH		69.203	230.612	340.989	43.385
3г	5-OH		80.314	234.177	338.055	57.796
	3'-OH	161.308	81.059	234.922	350.475	45.755
	5'-OH		81.913	235.776	351.531	45.553
3д	5-OH		79.838	241.699	334.246	60.763
	3'-OH	152 211	72.909	234.769	340.523	47.557
	4'-OH	155.511	63.886	225.747	334.093	44.964
	5'-OH		73.411	235.272	341.964	46.618
4a	5-OH	168.510	78.554	225.215	474.447	80.722
46	5-OH	165 120	80.178	230.211	347.907	47.442
	4'-OH	103.138	81.055	231.088	335.477	60.749
4в	5-OH		80.163	231.962	347.153	48.180
	3'-OH	163.371	73.580	225.380	328.901	59.851
	4'-OH		76.441	228.240	334.171	57.440
4Γ	5-OH		80.536	225.706	345.877	49.830
	3'-OH	170.001	85.189	230.360	343.502	56.858
	5'-OH		85.009	230.010	343.102	56.123
4д	5-OH		80.166	232.889	347.355	47.982
	3'-OH	162 119	77.408	230.131	333.612	58.967
	4'-OH	102.448	67.771	220.494	324.208	58.734
	5'-OH		75.833	230.007	333.114	58.017

Известно, что электроноакцепторные заместители стабилизируют исходную молекулу и дестабилизируют соответствующие радикал и катионрадикал, а электронодонорные – имеют противоположный эффект. Таким образом, замена бензольного кольца пиридиновым должна приводить к росту AIP и BDE связи O–H, однако увеличение числа гидроксильных групп должно понижать энергии этих процессов. Такой комбинированный результат действительно наблюдается. Как видно из таблицы 3 и рис. 10,а, AIP для изомерных стильбазолов (1а) и (8) имеют наибольшие значения, в то время как соединения (16, 1в, 1д) обладают AIP ниже, чем у *транс*-ресвератрола, т.е. обладают высокой способностью к электронному переносу при взаимодействии со свободными радикалами в биологических системах по механизму SET-PT. Отметим, что введение этильного фрагмента в пиридиновый цикл (соединения (2)) ожидаемо дополнительно снижает AIP по сравнению с производными (1) при сохранении общей тенденции влияния числа и расположения гидроксильных групп в скелете молекулы. В тоже время, для производных (**3**) и (**4**) отмечается рост значений адиабатического потенциала ионизации, особенно выраженный для производных с остовом имидазо[4,5*b*]пиридина. В результате независимо от количества и положения гидроксильных групп для всех производных (**4**) АРІ оказывается на 10-15 ккал/моль выше, чем у ресвератрола, тем не менее оставаясь существенно ниже по сравнению с 2-этил-6-метилпиридинолом-3.







Рисунок 10. Вычисленные параметры адиабатического потенициала ионизации (а) и энергий диссоциаций связей О-Н (б) для исследуемых соединений

Сравнение значений BDE – дескриптора (рис. 10,6), определяющего антиоксидантную активность по HAT механизму, для пары изомеров (1а) и (8) показывает, что связь О-Н в пиридиновом фрагменте оказывается несколько слабее, чем в бензольном и сопоставима по прочности с О-Н связью *транс*-ресвератрола, определяющую его антиоксидантные свойства.

Введение дополнительных гидроксилов в *пара*-положение ожидаемо способствует дальнейшему понижению BDE, в то время как *мета*замещенные производные (**1**г) демонстрирует близкие для всех гидроксилов прочности связей, наивысшие в ряду исследуемых соединений и сопоставимые со значением 2-этил-6-метилпиридинола-3. Отметим, что наличие гидроксила в соседнем положении существенно снижает BDE, что согласуется с вышеприведёнными данными о стабилизации радикалов в этом случае за счет образования внутримолекулярных водородных связей.

Анализ результатов для производных (2) показывает, что введение этильной группы оказывает слабое влияние в сторону снижения величины BDE для O-H связи в пиридиновом фрагменте, но приводит к росту BDE для гидроксильных групп бензольного кольца. Переход к остовам (3) и особенно (4) характеризуется существенным увеличением BDE.

В отличие от предыдущих дескрипторов, РА, представляющая собой энтальпию реакции первой стадии в механизме SPLET, должна иметь противоположную зависимость от электронных эффектов заместителей, поскольку электроноакцепторные группы стабилизируют ArO<sup>-</sup> и дестабилизируют родительские структуры, а электронодонорные группы - наоборот. Действительно, РА для наиболее легко диссоцирующих О-Н связей во всех исследуемых структурах оказывается ниже, чем в ресвератроле, за счет влияния обедненного электронами пиридинового кольца.

PDE и ETE, представляющие собой энтальпии реакций второго этапа в механизмах SET-PT и SPLET, соответственно, также важны для оценки полной энергетики этих процессов. Анализ полученных данных показывает, что изменения PDE неплохо коррелирует с изменением BDE, что позволяет

предполагать сходное влияние структурных и электронных характеристик на эти параметры.

Таким образом, на основе полученных данных можно сделать ряд обобщений: в независимости от реализуемого механизма антиоксидантого действия наибольшей активностью должны обладать производные (1) и (2) с остовом *транс*-стильбазола; в независимости от строения остова введение гидроксильной группы в *пара*-положение бензольного кольца способствует потенцированию антиоксидантных свойств; наиболее выраженной активностью по отношению к АФК должны обладать структуры, содержащие катехоловый или пирогаллоловый фрагменты, в которых семихиноновый радикал дополнительно стабилизируется внутримолекулярной водородной связью. Высокой реакционной способности таких структур также должна способствовать возможность взаимодействия семихинонового радикала со второй частицей АФК с образованием *орто*-хинонов.

## 2.4 Синтез аналогов ресвератрола

### 2.4.1 Синтез стильбазольных аналогов ресвератрола

В литературных источниках при создании стильбенового остова ресвератрола и его замещенных аналогов предлагается использовать как классические методы (реакция Виттига [82-86], реакция Хорнера-Вадсворта-Эммонса [87]), так и процессы кросс-сочетания (реакция Хека [88]). Стратегия, основанная на построении связи С=С, используется наиболее часто. Она оправдана и в случае 2-стильбазольной структуры, однако наличие пиридинового фрагмента позволяет рассматривать в качестве альтернативного подхода реакцию конденсации типа Кнёвенагеля, не требующую предварительного получения илидов фосфора, фосфонатов или применения дорогостоящих палладиевых катализаторов, а позволяющую использовать в качестве исходных коммерчески доступные пиколины и соответствующие замещенные бензальдегиды. Следует отметить, что конденсация незамещенного 2-

пиколина (5) с бензальдегидами протекает достаточно легко и с хорошим выходом при нагревании в присутствии  $ZnCl_2$  или  $Ac_2O$ . Полученный таким образом стильбазол (76) затем был конвертирован в гидроксипроизводное (8).



Но в случае гидроксизамещенного пиколина (**9a**) в аналогичных условиях происходит лишь осмоление реакционной смеси.

Одной из причин, по-видимому, являются процессы окисления исходного соединения с последующей поликонденсацией продуктов. С целью защиты гидроксильной группы было проведено метилирование соединения (9а), при этом использование стандартных литературных методик (диметилсульфат в присутствии метилата или гидроксида натрия, CH<sub>3</sub>I в ацетоне или ДМФА) показало их низкую эффективность, а удовлетворительных результатов удалось добиться лишь при использовании алкилирования эфирным раствором диазометана или CH<sub>3</sub>I в присутствии CH<sub>3</sub>ONa при микороволновом инициировании. Соединение (10а) в вышеописанных условиях также не приводило к получению целевых стильбазолов. Причиной этого, по нашему мнению, оказывается невысокая реакционная способность эфира (10а) в качестве метиленовой компоненты, обусловленная снижением (по сравнению с незамещенным 2-пиколином) кислотности группы CH<sub>3</sub> из-за донорного влияния заместителя в положении 5. Известно [89], что существенное увеличение подвижности атомов водорода в α-положении боковых алкильных групп пиколинов происходит при их превращении в соответствующие *N*-оксиды или четвертичные алкилпиридиниевые соли.



*a)* CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>O, 0 - 20 <sup>0</sup>C; *b)* CH<sub>3</sub>I, CHCl<sub>3</sub>, 90 <sup>0</sup>C, 40 мин, mw; *c)* 1. CH<sub>3</sub>ONa, CH<sub>3</sub>OH, 100 <sup>0</sup>C, 1.5ч, mw; 2. CH<sub>3</sub>I, 100 <sup>0</sup>C, 2ч, mw; *d)* ArCHO (**6а-**д), пиперидин, бутанол-1, 117 <sup>0</sup>C, 5-10ч; *e)*[PyH]<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup>200-210 <sup>0</sup>C, 3ч; *f)* BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub> -10 - (20) <sup>0</sup>C, 24ч; *g*) HCl, CH<sub>3</sub>OH, (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>O, 20 <sup>0</sup>C

Алкилпиридиниевая соль (11а) была получена в условиях микроволнового инициирования действием иодистого метила. Далее соединение (11а) вводили в реакцию конденсации с метоксизамещенными бензальдегидами при кипячении в бутаноле-1 в присутствии пиперидина. В результате были получены соли (12а-д) с выходом 53-84%, которые далее необходимо было подвергнуть N- и O-деметилированию. Отметим, что из литературных источников известно, что процесс О-деметилирования протекает достаточно легко, в то время как *N*-дезалкилирование пиридиновых солей происходит с трудом и в большинстве случаев возможно только для *N*-метильных производных путем их термического разложения в вакууме, действием трифенилфосфина в ацетонитриле или ДМФА, либо с использованием в качестве деметилирующего агента диметиланилина [90]. Использование указанных реагентов не увенчалось успехом. В тоже время удачной альтернативой оказалось применение пиридиний хлорида [91]. Реакцию проводили в течение 3 ч (1,5 ч постепенный нагрев до температуры 200 – 210 °C, 1,5 ч – выдерживание при указанной температуре). В данном случае происходило полное деметилирование солей (12а-д) с образованием гидроксистильбазолов (1а-д).

Как отмечалось выше, наличие атома азота в структурах (**1а**-д) можно использовать для повышения водорастворимости соединений, в частности используя стандартный подход – образование солей. С этой целью соединения (**1а**-д) были переведены в соответствующие гидрохлориды (**13а**-д) путем добавления к их метанольному раствору избытка насыщенного раствора хлороводорода в диэтиловом эфире.

Испытание на растворимость в воде для соединений (**13а-д**), проведенное согласно ОФС.1.2.1.0005.15 [92] дало значения в интервале 5 – 9 мг/мл. Таким образом, по сравнению с ресвератролом (<0.05 мг/мл) происходит повышение растворимости на два порядка, что соответствует переходу из группы очень мало растворимых веществ в группу малорастворимых соединений.

Кроме того, путем обработки BBr<sub>3</sub> солей (**12а**-д) были получены гидроксипроизводные (**14а**-д), содержащие кватернизированный атом азота пиридинового цикла. Данные соединения могут представлять интерес в качестве митохондриально-направленных антиоксидантов, так как известно, что наличие положительного заряда в молекуле способствует ее переносу внутрь митохондрий.

Далее мы обратились к синтезу гидроксистильбазолов с остовом (2), отличающимся наличием этильного фрагмента в  $\alpha$ -положении пиридинового цикла. Интерес к подобным структурам был продиктован известным фактом увеличения актиоксидантной активности соединений с алкильным заместителем в *орто*-положении относительно фенольного гидроксила, способствующим стабилизации феноксильного радикала за счет эффекта экранирования. Кроме того, фрагмент (**96**) является основой препаратов с доказанным антиоксидантным эффектом, таких как эмоксипин и мексидол [93-104].

При получении производных (**2а**-д) была повторена вышеописанная схема. Однако, в отличие от соединения (**11а**), на этапе конденсации аммонийной соли (**116**) с соответствующими бензальдегидами (**6а**-д) в реакционной смеси методами ТСХ и ЯМР <sup>1</sup>Н фиксировалось образование двух продуктов в соотношении 1,5:1.



*a)* CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, (C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>)<sub>2</sub>O, 0 - 20 <sup>0</sup>C; *b*) CH<sub>3</sub>I, CHCl<sub>3</sub>, 90 <sup>0</sup>C, 120 мин, mw; *c*) 1. CH<sub>3</sub>ONa, CH<sub>3</sub>OH, 100 <sup>0</sup>C, 1.5ч, mw; 2. CH<sub>3</sub>I, 100 <sup>0</sup>C, 2ч, mw; *d*) ArCHO (**6а-**д), пиперидин, толуол-бутанол-1, кипячение, 2ч; *e*)[PyH]<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup> 200-210 <sup>0</sup>C, 3ч

Индивидуальные компоненты смесей удалось выделить путем дробной кристаллизации из этанола. В качестве основных продуктов выступали целевые соединения (15а-д). Их строение было убедительно доказано методами ЯМР <sup>1</sup>Н и <sup>13</sup>С спектроскопии. Так, в спектрах ЯМР <sup>1</sup>Н соединений (15а-д) присутствуют 2 дублетных сигнала равной интенсивности при 8 м.д. относящиеся к протононам пиридинового цикла, в слабопольной части спектра наблюдается соответствующее количество сигналов протонов бензольного кольца, в областях 6,5-7,5 м.д. фиксируются парные дублетные сигналы с КССВ 16 Гц, принадлежащие протонам двойной связи и Е-конфигурацию, подтверждающие ee В сильном поле отчетливо идентифицируются сигналы этильного фрагмента (триплет и квадруплет), а также группа трехпротонных синглетных сигналов метоксигрупп и отдельно расположенный в области 4 м.д. синглетный трехпротонный сигнал фрагмента *N*-CH<sub>3</sub>.

Спектры минорных компонентов смеси в целом напоминали спектры основных продуктов, однако фиксировалось небольшое смещение сигналов протонов и отсутствие сигнала *N*-метильной группы. В результате этому

компоненту было приписано строение *N*-деметилированных производных (**16а-д**). Вероятно, деметилирование у атома азота происходит при действии присутствующего в смеси пиперидина в результате его нуклеофильной атаки на *N*-метильную группу.

Поскольку очистка целевого продукта была весьма трудоемкой и безусловно приводила к снижению выхода, был поставлен вопрос о подборе оптимальных условий проведения конденсации, позволяющих получать незагрязненный продукт.

Исходя из существенных отличий в полярности целевых и побочных продуктов, рациональном решением, по нашему мнению, мог бы стать подбор для проведения реакции соответствующего растворителя, в котором целевые соли (**15а-д**) были бы нерастворимы и могли быть отделены фильтрованием. Проведенные эксперименты показали, что замена бутанола-1 на этанол или бензол не приводит к желаемому результату, а в толуоле образование целевых продуктов и вовсе не наблюдается. Оптимальных результатов удалось достичь при проведении реакции в бинарной системе толуол-бутанол-1 (5:1). В этом случае соли (**15а-д**) практически полностью осаждалась из смеси, а продукты деметилирования (**16а-д**) оставались в растворе.

Поскольку побочные продукты (**16а-д**) представляют самостоятельный интерес, мы обратились к изучению возможности подбора условий проведения процесса, которые позволят одновременно провести конденсацию и полное *N*-деметилирование. С этой целью была проведена серия one-pot реакций соединения (**116**) с альдегидами (**6а-д**) в присутствии 1 эквивалента пиперидина с последующим добавлением к реакционной смеси избытка пиперидина по окончании стадии конденсации.

В результате наблюдалось образование продуктов (**16а-д**) с невысоким выходом (10-42%), а наличия кватернизированных производных (**15а-д**) не фиксировалось. Очистка соединения (**16а-д**) проводилась многократной промывкой метил-*трет*-бутиловым эфиром и пропусканием их растворов в

хлористом метилене через силикагель, их структура подтверждена методами ЯМР <sup>1</sup>Н и <sup>13</sup>С спектроскопии путем сравнения с ранее полученными данными.

Основной причиной невысокого выхода соединений (16а-д) является существенное осмоление реакционной массы в ходе процесса, связанное, по нашему мнению, с протеканием побочных реакций раскрытия цикла в Nметилпиридиевых солях при нуклеофильной атаке избытка пиперидина с образованием продуктов типа альдегидов Цинке и их последующей полимеризации. В литературе указывается, что такие процессы особенно характерны при участии вторичных аминов [105]. Таким образом, рассмотренная схема хотя и является работоспособной, но требует проведения дальнейших исследований с целью снижения доли побочных реакций, возможной В частности, замены пиперидина на стадии деметилирования на менее нуклеофильный реагент.

Как отмечалось выше, по данным ЯМР <sup>1</sup>Н спектроскопии все полученные стильбазольные производные имеют исключительно *E*-конфигурацию двойной связи. Однако, для исследуемых структур наряду с *цис-транс*изомерией возможно существование ротамеров (**A**) и (**b**), обусловленных различным положением пиридинового атома азота относительно олефинового фрагмента. Результаты проведенных нами квантово-химических расчетов указывают на большую стабильность структуры (**b**), что объясняется образованием слабой водородной связи между атомами азота и H<sup>b</sup>.



Для оценки строения преимущественно образующегося ротамера на примере соединений (16) и (1в) было проведено дополнительное исследование с использованием методов 2D ЯМР спектрометрии<sup>1</sup>.

Прежде всего, с использованием метода  ${}^{1}\text{H}{}^{15}\text{N}$  HMBC (рис. 11) было однозначно установлено положение сигнала H<sup>*a*</sup>, что следовало из присутствия в спектре лишь двух кросс-пиков, соответствующих взаимодействию ядер N и H<sup>6</sup>, H<sup>a</sup>.



**Рисунок 11**. Спектр НМВС (<sup>1</sup>Н-<sup>15</sup>N) соединения (16)

В спектре NOESY соединения (**16**) наблюдался кросс-пик, соответствующий взаимодействию протонов  $H^3$  и  $H^a$ , что подтверждает преимущественное образование ротамера (**Б**) (рис 12).

<sup>&</sup>lt;sup>1</sup> Автор благодарит к.х.н. Петрова Павла Сергеевича за помощь в записи и интерпретации 2D ЯМР спектров



Рисунок 12. Спектр NOESY соединения (16)

Аналогичная картина наблюдалась и в случае соединения (**1**в). Строение производного (**1**в) также было исследовано методами РСА (рис. 13).



Рисунок 13. Структура соединения (1в) по данным РСА

Анализ данных РСА подтверждает как *транс*-расположение фенильного и пиридинового фрагментов относительно двойной связи, так и исключительное формирование ротамера (**Б**). Значения длин связей C(9)-C(8) [1.457(5) Å], C(8)-C(7) [1.337(6) Å] и C(7)-C(1) [1.463(5) Å] ( см. табл. в Приложении Б), указывают на конъюгацию двойной связи с ароматическими кольцами и частичную делокализацию  $\pi$ -электронов в сопряженной системе. При этом, следует отметить, что в структуре кристалла молекула производного (**1**в) не является компланарной. Торсионный угол между атомами C(7)-C(8)-C(9)-N(1) составляет 14,6(5)°, а между атомами C(2)-C(1)-C(7)-C(8) - 9,8(7)°.

Анализ молекулярной кристаллической упаковки для производного (**1**в) показал, что она обеспечивает формирование регулярных водородных связей между молекулами с участием как гидроксильных групп, так и атома азота пиридинового фрагмента (рис. 14).



Рисунок 14. Схема упаковки кристалла производного (1в)

Наличие такого рода взаимодействий позволяет части молекул выступать в роле эффективной матрицы, способствующей формированию слоев из стильбазольных молекул с ориентацией «голова к хвосту». Таким образом,
молекулярная упаковка существенно отличается от таковой для незамещенного 2-стильбазола, где реализуется упаковка «елочкой» со слабым π-π перекрыванием между соседними молекулами [80].

Следует отметить, что параллельное и достаточно близкое расположение слоев из молекул стильбазола (**1**в) в кристалле удовлетворяет «топохимическому постулату», сформулированному Шмидтом для предсказания способности алкенов подвергаться твердофазному [2+2] фотоциклоприсоединению [106]. В нем отмечается два важных критерия для возникновения димеризации: а) двойные связи кристаллических реагентов должны быть параллельны друг другу, б) расстояние между центрами реагирующих алкенов должно быть менее 4,2 Å.

Исходя из этого нами были проведены эксперименты по облучению соединения (**1B**) в твердом состоянии нефильтрованным светом ртутной лампы высокого давления. Однако, даже по прошествии 80 ч в спектрах ЯМР <sup>1</sup>Н изучаемого образца не фиксировалось видимых изменений. Такая фотоустойчивость, вероятно, может быть объяснена предложенной Коэном концепцией «реакционной полости» [107]. Согласно нее меж- и внутримолекулярное движение реакционноспособной пары ограничено кристаллической решеткой и даже удовлетворяющие постулатам Шмидта параллельно ориентированные олефины могут не вступать в реакцию в твердом состоянии, поскольку возмущение решетки, необходимое для размещения продукта фотодимеризации, требует слишком больших затрат энергии [108].

Из литературы известно, что ресвератрол под действием УФ-излучения достаточно легко претерпевает *цис-транс*-изомеризацию [109]. Учитывая различия в физиологических эффектах изомеров, в частности, более выраженных антиоксидантных и цитопротекторных свойств, фиксируемых для *транс*-ресвератрола и его производных, и имеющихся сведениях о антимитотической активности *цис*-изомера, мы провели оценку способности к такой изомеризации для синтезированных стильбазольных аналогов. Следует отметить, что молекулы гетеростильбенов наряду с *E*,*Z*-фотоизомеризацией могут

также участвовать в двух других типах фотохимических реакций: фотодимеризации и фотохимической внутримолекулярной циклизации, а ход превращения определяться как строением гетеростильбенов, так и условиями их фотолиза [110].

Эксперименты проводились путем облучения нефильтрованным светом ртутной лампы высокого давления 1мМ растворов исследуемых соединений в ацетонитриле. Контроль за ходом реакции осуществлялся путем периодического отбора проб и фиксации изменений, происходящих в УФ спектре. На примере (**16**) было показано, что под действием УФ-излучения происходит уменьшение интенсивности максимума поглощения при 329 нм (рис. 15). Одновременно с этим происходит и снижение интенсивности пика при 293 нм. Это согласуется с литературными данными о спектрах поглощения *цис-* и *транс-*2-стильбазолов [110].



Рисунок 15. Изменение УФ-спектра соединения (16) в процессе изомеризации

По окончании процесса в реакционной смеси методами ЯМР <sup>1</sup>Н наряду с исходным стильбазолом (**16**) (рис. 16, выделено красным) фиксировалось формирование его *цис*-изомера (соотношении *цис-транс* 1,27:1), на присутствие которого указывало удвоение основных сигналов ароматического остова и появление в области 6.3-6.5 м.д. двух новых дублетных сигналов с КССВ 12.7 Гц, характерной для *цис*-расположения олефиновых протонов.



Рисунок 16. Наложение спектров ЯМР <sup>1</sup>Н (16) и реакционной смеси после УФ-облучения

Как обсуждалось ранее, для жесткой пространственной фиксации взаимного расположения бензольных колец, близкой к таковой в структуре *mpaнc*-ресвератрола, возможна замена двойной связи на гетероциклические фрагменты. Важным условием при этом является не только пространственное сходство, но и сохранение единой сопряженной системы молекулы, необходимой для максимальной делокализации электронной плотности, как важнейшего фактора стабилизации феноксильного радикала, формирующегося при взаимодействии ресвератрола с АФК и определяющего его антиоксидантные свойства.

Используя этот подход, мы обратились к синтезу 3гидроксипиридиновых аналогов ресвератрола, содержащих гетероциклические линкеры, выбор которых был продиктован привилегированностью структур с точки зрения медицинской химии и тем самым возможностью расширения физиологических эффектов синтезируемых молекул за счет дополнительных фармакофорных фрагментов.

#### 2.4.2 Синтез аналогов ресвератрола с имидазольным линкером

На основании проведенной ранее теоретической оценки антиоксидантогного потенциала и параметров ADME из серии имидазольных производных (**3а-д**) для синтеза были выбраны соединения (**36,в**).

Из литературы известно два подхода к получению замещенных имидазолов, один из которых основан на непосредственном создании имидазольного фрагмента [111], другой – на использовании готового билдинг-блока. Однако первый вариант в случае производных 2-аминопиридина приводит к образованию циклов с участием пиридинового атома азота [112]. Поэтому мы остановили свой выбор на втором подходе, предполагающим сочленение готовых циклических фрагментов. Отметим, что традиционно основным подходом к синтезу ароматических и гетероароматических аминов являются реакции *N*-арилирования, катализируемые соединениями палладия или меди [113-123]. Мы остановили свой выбор на медькатализируемых процессах, проводимых в условиях микроволнового инициирования. Необходимые для реализации этой стратегии гетероциклические билдинг-блоки были предварительно получены по известным литературным методикам, исходя из коммерчески доступных 2-аминопиридина (**17**) и имидазола (**21**), и далее вводились в процесс *N*-арилирования.

Несмотря на многочисленные примеры медь катализируемых процессов *N*-арилирования, ключевая реакция для наших субстратов потребовала тщательного подбора условий. Сведения о проведенных экспериментах обобщены в таблице 4.



*a)* Br<sub>2</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>,CH<sub>3</sub>CN; *b)* CH<sub>3</sub>ONa, Cu<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>OH, mw; *c)* NaNO<sub>2</sub>, Br<sub>2</sub>, HBr, -15 - 0 <sup>0</sup>C; *d)* 1. Br<sub>2</sub>, CHCl<sub>3</sub>, 0 <sup>0</sup>C; 2.Na<sub>2</sub>SO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>O, 100 <sup>0</sup>C; *e)* Cu<sub>2</sub>O, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ДМСО или H<sub>2</sub>O, 120 <sup>0</sup>C, mw

Таблица 4. Условия и результаты	реакции	2-бромпиридина	(20a)	и имидазо-
ла (22)*				

Соотношение реагентов (20а) / (22)	Си <sub>2</sub> О, мол.%**	К <sub>2</sub> СО <sub>3,</sub> экв	Рас- твори- тель	t, мин	Содержание продукта (23а) в реакционной смеси (ГХ-МС), %
1.0	10	2	ДМСО	120	40
1.1	10	2	ДМСО	120	60
1.1	20	2	ДМСО	120	55
1.1	10	2	ДМСО	150	80
1.1	10	2	ДМСО	180	80
1.1	10	2	Вода	120	2

\* Реакции проводились при 120 <sup>0</sup>С и микроволновом облучении

\*\* Использован лиганд L-пролин (20 мол.%)

В случае модельного субстрата (**20a**) наилучшие результаты были достигнуты при нагревании реакционной массы в среде ДМСО при 120  $^{\circ}$ С в течение 150 минут. Однако, при проведении в аналогичных условиях реакции для метоксизамещенного производного (**206**) фиксировалось существенное уменьшение конверсии и низкий выход целевого продукта. Очевидно, снижение реакционной способности бромида (**206**) обусловлено наличием донорной метоксигруппы. Повышения выхода соединения (**236**) до 70% удалось добиться заменой бромида (**206**) более активным иодидом (**28**), который был получен в результате четырехстадийного синтеза из коммерчески доступного 5-нитро-2-хлорпиридина (**24**).



*a)* NaI, CH<sub>3</sub>COOH ; *b)* Fe, HCl, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, H<sub>2</sub>O ; *c)* 1. NaNO<sub>2</sub>, HBF<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>O, -15 - 0 <sup>0</sup>C; 2. 100 <sup>0</sup>C; *d)* CH<sub>2</sub>N<sub>2</sub>, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, 0 <sup>0</sup>C; *e)* Cu<sub>2</sub>O, K<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, ДМСО, 120 <sup>0</sup>C, mw

Дальнейшее формирование целевого скелета предполагает создание С– С связи между гетероциклическим и фенильным фрагментами, традиционно реализуемое в результате реакции кросс-сочетания. Удобным вариантом является применение реакции Сузуки путем взаимодействия бромидов (**23а,6**) с 4-метоксифенилбороновой кислотой в присутствии палладиевого катализатора.



Кросс-сочетание проводили при микроволновом нагреве в течение 90 мин в водно-спиртовых смесях при температуре 110  $^{0}$ С. Сведения об экспериментах по оптимизации условий проведения процедуры на примере бромида (**23a**) обобщены в таблице 5.

· · · · · · · · · · · · · · · · · · ·					
Соотношение реагентов ( <b>29а</b> )/ ( <b>23а</b> )	Катализатор (1 мол.%)	РРh <sub>3,</sub> мол.%	Раствори- тель	Раствори- тель ( <b>30a</b> )	
2**	Pd(OAc) <sub>2</sub>	4	$EtOH + H_2O$	60	40
2.2	Pd(OAc) <sub>2</sub>	4	$EtOH + H_2O$	78	22
2.2	$Pd(OAc)_2$	0	$EtOH + H_2O$	0	100
2.2	$Pd(OAc)_2$	4	<i>i</i> -PrOH+ H <sub>2</sub> O	66	34
2.2	Pd/C	0	$EtOH + H_2O$	0	100
2.2	Pd(PPh <sub>3</sub> ) <sub>4</sub>	0	$EtOH + H_2O$	73	27

**Таблица 5**. Условия и результаты реакции бромида (**23a**) и бороновой кислоты (**29a**)\*

\*В качестве основания использован Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub> (1,5 ммоль)

\*\* Наблюдалась неполная конверсия бромида (23а) по данным ТСХ

Из данных таблицы следует, что полная конверсия исходных веществ, а также наибольшая селективность наблюдались при 2,2-кратном избытке бороновой кислоты и использовании каталитической системы Pd(OAc)<sub>2</sub>/PPh<sub>3</sub> в смеси растворителей этанол-вода.

Аналогичным образом было проведено взаимодействие бромида (**236**) с 4-метокси- и 3,4-диметоксифенилбороновыми кислотами.

Выделение продуктов кросс-сочетания (**30а-в**) проводилось с помощью колоночной хроматографии. Отметим, что наряду с побочным продуктом (**31**) из реакционной смеси было выделено соединение (**32**) – продукт восстановления исходного бромида (**236**).

С целью формирования целевых структур (**36**,**в**) соединения (**306**,**в**) подвергались деметилированию по ранее описанной процедуре действием пиридиний хлорида. В результате производные (**36**,**в**) были выделены в индивидуальном виде методом колоночной хроматографии.

Строение всех промежуточных и целевых продуктов подтверждено данными ЯМР <sup>1</sup>Н и <sup>13</sup>С спектроскопии. Так, в спектре ЯМР <sup>1</sup>Н производных (**36,в**) наряду с сигналами, принадлежащими атомам водорода пиридинового и бензольного циклов, наблюдались два слаборасщепленных дублетных однопротонных сигнала в области 8.0-9.8 м.д., а также уширенные синглетные сигналы протонов гидроксильных групп в области 10-11 м.д.

Для окончательного подтверждения структуры на примере производного (**36**) было проведено дополнительное исследование с использованием методов 2D ЯМР спектрометрии (рис. 17).



Рисунок 17. Спектр NOESY соединения (36)

В спектре NOESY соединения (**36**) ожидаемо наблюдались кросс-пики, соответствующие взаимодействию протонов  $H^{2',6'}$  с протонами  $H^{3',5'}$  фенольного фрагмента и протонов  $H^3$  и  $H^4$  в пиридиновом цикле. Появление двух кросс-пиков, соответствующих взаимодействиям протона  $H^3$  с водородными атомами  $H^a$  и  $H^6$  имидазольного цикла не только подтверждают заявленную структуру, но указывают на быструю инверсию ротамеров, что полностью согласуется с ранее полученными данными квантово-химических расчетов о низком энергетическом барьере этого процесса.

# 2.4.3 Синтез аналогов ресвератрола с остовом имидазо[4,5-*b*]пиридина

Еще одним вариантом замены этиленового линкера с формированием жесткофиксированной структуры, пространственно подобной трансресвератролу, может быть построение скелета конденсированных пятичленгетероциклов. Примером ных такого типа является остов имидазо[4,5-b]пиридина. Тщательный анализ литературных данных позволил остановить свой выбор на наиболее рациональной на наш взгляд схеме синтеза целевых соединений, ключевой стадией которой является конденсация 5бромпиридиндиамина-2,3 (34) с альдегидами [124] с последующей заменой брома в пиридиновом фрагменте на метоксигруппу по ранее разработанной процедуре.

Необходимый субстрат (**34**) был синтезирован из доступного 2аминопиридина в двухстадийном процессе.



*a)* HNO<sub>3</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, 0 - 50 <sup>0</sup>C, 3ч; *b)* Fe, HCl, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, H<sub>2</sub>O, кипячение, 1ч; *c)* ArCHO (**6а-г**), Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, ДМФ A, 130 <sup>0</sup>C, 6ч; *d)* CH<sub>3</sub>ONa, Cu<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>OH, 140 <sup>0</sup>C, 200 мин, mw; *e)* BBr<sub>3</sub>, CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, -17 - (20) <sup>0</sup>C, 24ч

Стадия конденсации диамина (**34**) с метоксилированными бензальдегидами протекала достаточно гладко и позволила получить имидазо[4,5-*b*]пиридины (**35а,6**) с хорошими выходами. Однако следующая стадия, предполагающая замену атома брома на метоксигруппу, вызвала определенные затруднения. Процесс удалось провести только для бромида (**35а**), а в случае соединения (**356**) даже при использовании большего избытка метилата натрия и увеличении времени и температуры процесса в реакционной смеси не наблюдалось образования целевого продукта. Причиной этого, по нашему мнению, является увеличение числа заместителей электронодонорного характера в бензольном кольце, за счет чего понижается реакционная способность бромида (**356**).

Поэтому далее мы решили провести аналогичную серию превращений с использованием соответствующих иодпроизводных.



*a)* I<sub>2</sub>, NaIO<sub>4</sub>, H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub>, CH<sub>3</sub>COOH, H<sub>2</sub>O, 100 <sup>0</sup>C, 5ч; *b)* Fe, HCl, C<sub>2</sub>H<sub>5</sub>OH, H<sub>2</sub>O, кипячение, 1ч; *c)* ArCHO (**6**B), Na<sub>2</sub>S<sub>2</sub>O<sub>5</sub>, ДМФА, 130 <sup>0</sup>C, 6ч; *d)* CH<sub>3</sub>ONa, Cu<sub>2</sub>O, CH<sub>3</sub>OH, 140 <sup>0</sup>C, 200 мин, mw; *e)* [PyH]<sup>+</sup>Cl<sup>-</sup>, 200-210 <sup>0</sup>C, 3ч

Иодпроизводное (**40**) было получено по методике, описанной ранее для аналогичного бромида, и далее вводилось в реакцию замещения атома иода на метоксигруппу. В результате с хорошим выходом был получен целевой метоксизамещенный имидазо[4,5-*b*]пиридин (**366**).

Деметилирование имидазо[4,5-*b*]пиридинов (**36а,б**) проводилось действием BBr<sub>3</sub> или пиридиний хлорида и привело к целевым гидроксипроизводным (**46,в**), очищенным колоночной хроматографией.

Структуры всех имидазо[4,5-*b*]пиридинов подтверждены данными спектров ЯМР <sup>1</sup>Н и <sup>13</sup>С, в которых имеется соответствующее количество сигналов, принадлежащих атомам Н и С скелета молекул. Введение атома иода подтверждено наличием в углеродном спектре сигнала в области 84,8 м.д. Протонные спектры метоксипроизводных (**36а,6**) содержат синглетные трехпротонные сигналы в области 3.1-3.9 м.д., группы ОН и NH соединений

(46,в) проявляются в протонных спектрах в виде уширенных сигналов при 9,5-13,5 м.д.

# 2.5 Оценка цитотоксичности стильбазольных аналогов ресвератрола

Учитывая потенциальное биомедицинское применение синтезированных аналогов ресвератрола, немаловажной задачей является оценка их токсического действия на живые системы.

Простой и удобной методикой первичной оценки токсичности является изучение влияния соединений на рост и развитие клеточных линий. По литературным данным известно, что существует четкая дозозависимость во влиянии рествератрола на пролиферацию клеток различных типов. В частности, исследования на клеточной линии МСГ-7 показали, что низкие концентрации соединения индуцировали пролиферацию, а высокие – подавляли ее [125].

В нашем исследовании совместно с сотрудниками медицинского института НИ МГУ им. Н.П. Огарева<sup>2</sup> мы изучили влияние ресвератрола и его синтетических аналогов (**1а-д**) и (**2а-д**) на выживаемость фибробластов мыши L929 (полученных из Коллекции тканевых культур Ивановского НИИ вирусологии) с помощью МТТ-теста, представляющего собой чувствительный, количественный и надежный колориметрический анализ жизнеспособности, пролиферации и активации клеток [126].

Было выявлено, что все исследуемые соединения снижали жизнеспособность фибробластов в диапазоне концентраций от 3.125 до 200 µМ. При более высоких концентрациях для ряда соединений отмечалось парадоксальное увеличение образования формазана. Так, налог (**26**) вызывал снижение жизнеспособности фибробластов в диапазоне концентраций от 3.125 до 200 µМ, но при повышении концентрации от 400 до 800 µМ наблюдался подъем

<sup>&</sup>lt;sup>2</sup> Автор благодарит к.м.н. Минаеву Ольгу Владимировну и к.м.н. Семенову Елену Васильевну за помощь при проведении исследования цитотоксичности

кривой выживаемости. Однако данные в этом концентрационном интервале расходились с результатами микроскопии, свидетельствовавшими о дозозависимом снижении количества жизнеспособных клеток и были признаны артефактными. Таким образом, при расчете величин  $IC_{50}$  в анализ были включены лишь показатели, имевшие стойкое подтверждение по данным микроскопии. Нетипичная форма кривой выживаемости (**1**в) и (**2**в) привела к невозможности расчета  $IC_{50}$  методом нелинейной регрессии. Обобщенные данные для остальных производных приведены в таблице 6.

IC50, μM Соединение Б a В Г Д 1 205 531 163 178 25 2 194 57 8 25 39 ресвератрол

**Таблица 6**. Величины IC<sub>50</sub> соединений (**1а-д**, **8**) и ресвератрола

Полученные данные свидетельствуют о том, что большинство исследуемых соединений (за исключением производных (26) и (8)) проявляют достоверно меньшую токсичность по сравнению с ресвератролом.

Важным вопросом, возникшим в ходе исследования, являлся нетипичная форма кривой выживаемости в случае ряда исследуемых соединений, а именно парадоксальное увеличение образования формазана на фоне высоких концентраций субстратов. Данный факт может быть объяснен прямым взаимодействием этих соединений с МТТ в указанных концентрациях ввиду наличия у них выраженных восстанавливающих свойств. Для проверки выдвинутой гипотезы была выполнена серия «холостых» экспериментов с присутствием МТТ, но в отсутствии клеток с охватом всего диапазона исследуемых концентраций. В результате для соединения (**1**в) образование формазана фиксировалось уже при концентрациях выше 50 µМ. Для аналогов (**1**г) и (**1**д) появление синей окраски отмечалось в концентрациях выше 400 и 200 µМ, соответственно. Полученные данные свидетельствуют о том, что в указанных концентрациях изучаемые вещества вступают в прямое взаимодействие с МТТ.

### 2.6 Оценка антирадикальной и антиоксидантной активности

Одной из основных задач исследования было проведение сравнительной оценки антирадикальной и антиоксидантной активности синтезированных соединений.

#### 2.6.1 Оценка антирадикальной активности

Эффективность действия антиоксидантов во многом связана с их способностью взаимодействовать со свободными радикалами. Поэтому одним из наиболее простых и экспрессных способов оценки антиоксидантного потенциала соединений является метод, основанный на реакции тестируемых веществ со стабильным хромоген-радикалом 2,2-дифенил-1'-пикрилгидразилом (ДФПГ) [127].

В своем исследовании мы воспользовались стандартной процедурой данного метода, включающей фотометрическую оценку изменения окраски раствора ДФПГ в присутствии различных концентраций исследуемых соединений при 30-тиминутном инкубировании при комнатной температуре. Процент ингибирования ДФПГ оценивали по формуле:  $In(\%)=(A_c-A_i)/A_c\times100$ , где  $A_c$  – оптическая плотность исходного раствора ДФПГ;  $A_i$  – оптическая плотность исходного раствора ДФПГ;  $A_i$  – оптическая плотность раствора ДФПГ в присутствии исследуемого соединения. Концентрацию антиоксиданта, при которой происходит 50% ингибирование (IC<sub>50</sub>), рассчитывали графически. Полученные данные об антирадикальной активности соединений приведены в таблице 7 и на рисунке 18.

Анализ результатов показывает, что соединения, содержащие ОНгруппы в *пара*-положении к двойной связи, обладают лучшими антирадикальными свойствами, причем ее увеличению способствует появление по соседству дополнительных гидроксильных групп, что полностью согласуется с данными квантово-химических расчетов.

**Таблица 7**. Величины IC<sub>50</sub> (µМ) ДФПГ теста соединений (1) –(4), (14)

Coorrespondence	IC <sub>50</sub> (µM)								
Соединение	1	2	3	4	14				
a	1923±57	132.1±9.25	_	_	425 (29,6%) <sup>*</sup>				
б	14.8±1.50	18.40±0.32	1915 (21.6%)	1915 (2%)	425 (16.5%)				
В	5.8±0.30	19.26±0.80	18.05±0.26	29.45±1.72	12.73±1.14				
Г	926±18	132.1±1.43	_	—	2341±121				
Д	7.5±0.59	8.21±0.03	_	—	5.52±0.03				
Ресвератрол	64.5 ±10								

\* % ингибирования при данной концентрации ЭМГП с=2000 µМ, % ингибирования 6.7



Рисунок 18. Величины  $lgIC_{50}$  (µМ) ДФПГ теста соединений (1) –(2)

Если оценивать эффективность введения этильного фрагмента, то в случае производных **a** и **г** это действительно приводит к значительному росту антирадикальной активности, в то время как в остальных случаях данная трансформация не оказывает значимого влияния на величину IC<sub>50</sub>, а в случае

производного в достоверно приводит к снижению антирадикальной активности.

Причины таких различий, по нашему мнению, следует искать в структурных особенностях этих двух групп производных, а именно в наличии в структурах б, в и д гидроксильной группы в положении 4' и ее отсутствии в производных а и г. Как было показано ранее в работе [75] при взаимодействии фенольных соединений с ДФПГ в спиртовых растворах наиболее вероятным является SPLET-механизм. Введение донорной этильной группы несколько дестабилизирует промежуточно формирующийся в этом процессе феноксид-анион, что нивелирует ее стабилизирующее влияние на формирующийся далее феноксильный радикал и в целом несколько снижает активность рассматриваемых производных. Действительно, в случае структуры б более существенным радикалстабилизирующим фактором должно быть образование *пара*-семихиноидной структуры, которая далее легко окисляется в соответствующий хинон. В случае соединений в и д определяющим оказывается влияние соседних гидроксильных групп за счет формирования внутримолекулярных водородных связей, что делает более активной гидроксильную группу в положении 4'. В тоже время, отсутствие указанных стабилизирующих эффектов в случае структур а и г, вероятно, создает условия, при которых положительный эффект за счет экранирования радикального центра преобладает над дестабилизирующим электронодонорным влиянием, что приводит к наблюдаемому существенному росту активности.

В целом, экспериментальные данные об активности исследуемых соединений подтверждают данные квантово-химических расчетов, что следует из результатов корреляционных зависимостей экспериментальных величин IC<sub>50</sub> в реакции с ДФПГ и рассчитанных дескрипторов. Наилучшая корреляция наблюдается с параметрами, определяющими взаимодействие антиоксиданта с ДФПГ по механизмам SPLET и SET-PT:

SET-PT:  $pIC_{50} = 0.33(\pm 0.02)API - 0.04(\pm 0.02)PDE - 32.39(\pm 2.39)$ 

$$n = 6; R^2 = 0.98; s = 0.17; F = 107.96$$
  
SPLET: pIC<sub>50</sub> = -0.14(±0.15) PA - 0.60(±0.25)ETE -45.89(±15.95)  
 $n = 6; R^2 = 0.82; s = 0.60; F = 7.10$ 

Проведенное исследование позволило выявить ряд соединений, обладающих лучшей способностью к перехвату радикалов в сравнении с ресвератролом, однако эти данные не позволяют делать однозначных заключений о столь же эффективных антиоксидантных свойствах исследуемых веществ. Во-первых, строение радикала ДФПГ абсолютно отлично от структур кислород-центрированных радикалов, на взаимодействие с которыми, прежде всего, ориентированы антиоксиданты, а во-вторых, механизм взаимодействия радикала с перехватчиком сильно зависит от внешних условий и может существенно измениться при переходе к иным системам.

#### 2.6.2 Оценка антиоксидантных свойств

Несмотря на то, что проблема кислородного метаболизма в организме человека является областью постоянного внимания в биологии и медицине, а препараты с антиоксидантным типом действия активно применяются для профилактики и лечения заболеваний, до сих пор не существует универсального метода, дающего полную информацию о взаимодействиях, протекающих в сложных системах между субстратами окисления, АФК и антиоксидантами. В целом, многообразие протекающих в природе радикальных процессов делает объективно невозможным не только существование единого метода оценки антиоксидантной активности соединений, но и существенно затрудняет сравнение результатов, полученных разными методами.

Наиболее распространенными является методы, основанные на добавках потенциальных антиоксидантов в модельную реакцию окисления относительно легко окисляющегося субстрата. Они различаются по типу источ-

ника окисления, окисляемого соединения и способу оценки протекания процесса [128].

В случае разработки антиоксидантов для медицинского применения, в качестве субстратов окисления логично использовать ключевые биомолекулы: белки, липиды, ДНК и др. Учитывая ведущую роль перекисного окисления липидов (ПОЛ) в различных патологиях в качестве модельного субстрата нами была выбрана линолевая кислота, окисление которой проводили при физиологической температуре (37,0 $\pm$ 0,1°C) в мицеллярном растворе Твин 20 в 50 мМ фосфатном буфере (pH 7.4) [129].

Важнейшим условием этой процедуры является ее выполнение при устойчивой и хорошо контролируемой скорости образования свободных радикалов (инициации), последнее может быть достигнуто путем применения в качестве источника свободных радикалов термолабильных азосоединений. Для этой цели нами был использован водорастворимый инициатор 2,2азобис(2-амидинопропан)дигидрохлорид (ААРН). Другим ключевым моментом является постоянный мониторинг окисления. Известно, что для оценки ПОЛ одним из удобных прямых методов является определение скорости потребления кислорода. Кинетику потребления кислорода при окислении линолевой кислоты оценивали электрохимическим методом с применением электрода Кларка, используя систему Oxygraph Plus, предназначенную для измерения потребления кислорода во времени образцами в жидкой фазе.

Наряду с исследуемыми соединениями в качестве реперных антиоксидантов были использованы ресвератрол и 2-этил-6-метилпиридинол-3 (ЭМГП).

Первоначально были проведены два контрольных опыта. Первый проводился с инициатором, но без добавления антиоксиданта и представлял собой смоделированный случай «окислительного стресса» (далее обозначается как «Контроль»). Второй осуществлялся без добавления антиоксиданта и инициатора и характеризовал аутоокисление, т.е. процесс окисления, происходящий в естественных условиях (далее - «Аутоокисление»).

Далее была проведена серия экспериментов по подбору эффективных концентрации антиоксидантов. Процедуру выполняли для соединений сравнения (ресвератрола и 2-этил-6-метилприридинола-3) и двух исследуемых образцов (**1**в) и (**2**в). Интервал исследуемых концентраций составил от 10µM до 1000 µM.

Из кинетических кривых (рис. 19-22) видно, что во всем диапазоне исследуемых концентраций антиоксиданты (**1**в), (**2**в), как и ресвератрол в значительной степени замедляли процесс окисления, а при концентрации 20 µМ снижали скорость окисления до уровня, сравнимого с аутоокислением. Дальнейшее повышение концентрации антиоксиданта приводило к еще большему торможению процесса. В противоположность этому, ингибирующий эффект 2-этил-3-гидрокси-6-метилпиридина оказался существенно ниже, и даже при концентрации 1000 µМ скорость окисления не достигала уровня естественного окисления.







Рисунок 20. Кинетические кривые окисления линолевой кислоты в присутствии различных концентраций соединения (2в) (t=37.0±0.1°C)



Рисунок 21. Кинетические кривые окисления линолевой кислоты в присутствии различных концентраций ЭМГП (t=37.0±0.1°C)



**Рисунок 22**. Кинетические кривые окисления линолевой кислоты в присутствии различных концентраций ресвератрола (t=37.0±0.1°C)

Исходя из результатов проведенных экспериментов для дальнейших исследований была выбрана концентрация антиоксидантов 20 µМ. Полученные зависимости представлены на рисунках 23, 24.

На основании полученных кинетических зависимостей были рассчитаны величины абсолютных и относительных скоростей окисления (таб. 8).

Анализ кинетических кривых и данных о скоростях окисления позволяет проследить следующие закономерности.

Во-первых, как и в случае ДФПГ тестов в соответствии с результатами квантово-химических расчетов наиболее активными оказались соединения (**16,в,д**) и (**26,в,д**), содержащие гидроксильные группы в *пара*-положении к двойной связи, а наименее активными были соединения (**1**г) и (**2**г) с гидроксильными группами в положении 3,5.



Рисунок 23. Кинетические кривые окисления линолевой кислоты в присутствии соединений (1а-д) (с=20 µМ), (t=37.0±0.1°C)



Рисунок 24. Кинетические кривые окисления линолевой кислоты в присутствии соединений (2а-д) (с=20 µМ), (t=37.0±0.1°C)

Во-вторых, вопреки ожиданиям роста антиоксидантной активности для структур с пирогаллоловыми и катехоловыми фрагментами в ряду 4-, 3,4-и

3,4,5-замещенных производных происходило незначительное уменьшение активности. Вероятном объяснением этого факта является снижение в указанной последовательности липофильности соединений (см табл. 1) и как следствие ухудшение их проникновения в липидную фазу.

Соединение	W, µМ[O <sub>2</sub> ]/мин	W <sub>0</sub> /W <sub>i</sub>
Контроль	8.83(W <sub>0</sub> )	1
Аутоокисление	1.76	5.02
Ресвератрол	1.79	4.94
ЭМГП	7.21	1.22
1a	5.19	1.70
16	1.24	7.10
1в	1.62	5.44
1r	6.86	1.29
1д	2.18	4.05
2a	1.89	4.68
26	0.95	9.27
2в	1.28	6.92
2г	4.89	1.81
2д	2.08	4.24
14a	7.85	1.12
146	8.04	1.09
14в	1.03	8.61
14г	8.57	1.03
14д	4.01	2.20
36	1.60	5.52
3в	1.09	8.06
46	9.48	0.93
4в	0.96	9.17

**Таблица 8**. Скорость окисления линолевой кислоты в присутствии антиоксидантов при 20 µM, с(линолевой кислоты)=8мM, с(ААРН)=2мM, t=37.0°C

При сопоставлении активности соединений (1) с их этильными аналогами (2) прослеживается увеличение антиоксидантной активности. Данный эффект обусловлен наличием этильного заместителя в *орто*-положении к гидроксильной группе пиридинового цикла. В большей степени этот эффект выражен для производных (1а) и (2а), в которых имеется лишь одна гидроксильная группа, а также соединений (1г) и (2г). Так, соединение (1а) снижало скорость окисления в 1,7 раза, в то время как соединение (2а) – в 4,7 раза, что сопоставимо со скоростью аутоокисления.

Данный факт свидетельствует о том, что в соединениях с незамещенным бензольным кольцом или замещенным в положениях 3,5 основной вклад в антиоксидантную активность вносит гидроксигруппа пиридинового цикла.



В остальных случаях эффект экранирования оказался не столь значительным – различие в скоростях окисления линолевой кислоты в присутствии стильбазолов (16)-(1д) и их этильных производных (26)-(2д) составило 25 %. Это косвенно свидетельствует о том, что указанные соединения проявляют антиоксидантные свойства преимущественно за счет гидроксильных групп в бензольном кольце, что согласуется с данными о величинах BDE связей O–H, полученных в квантово-химических расчетах (см. табл. 3).

Как отмечалось ранее, отдельный интерес представляют соединения (14), алкилированные по атому азота, катионный центр которых может выступать в качестве вектора для доставки соединений в митохондрии. С этой целью в описанных выше условиях были исследованы антиоксидантные свойства ряда *N*-метильных производных (14а-д). Кинетические кривые и данные о скоростях, полученные в результате проведенных экспериментов,

представлены на рис. 25 и в табл. 8 соответственно. Их анализ позволяет констатировать резкое снижение антиоксидантной активности, по сравнению с исходными структурами (**1а-д**). Фактически о сохранении антиоксидантных свойств можно говорить лишь в случае 3,4-дигидроксизамещенного производного (**14в**). Наблюдаемый эффект, вероятно, обусловлен как резким снижением липофильности, так и дестабилизирующим влиянием акцепторного пиридиниевого фрагмента на феноксильный радикал.



Рисунок 25. Кинетические кривые окисления линолевой кислоты в присутствии соединений (14а-д) (с=20 µM), (t=37.0±0.1°C)

Аналогичные эксперименты, проведенные для имидазолильных и имидазопиридиновых производных показали, что если соединения (**3**в) и (**4**в) проявляют высокую антиоксидантную активность (вследствие возможности образования внутримолекулярной водородной связи в феноксильном радикале), то их 4-гидроксизамещенные аналоги (**36**) и (**46**) ожидаемо оказались менее эффективны (рис. 26, табл. 8). При этом в случае производного (**36**) скорость окисления была сопоставима с аутоокислением, а соединение (**46**) фактически не проявляло антиоксидантных свойств, что, вероятно, связано с низкой стабилизацией феноксильного радикала.



ствии соединений (3б,в) и (46,в) (с=20 µМ), (t=37.0±0.1°C)

Вышеописанные результаты обобщены на рисунке рисунке 27.

Далее для оценки антиоксидантных свойств исследуемых соединений мы (совместно с сотрудниками медицинского института НИ МГУ им. Н.П. Огарева<sup>3</sup>) обратились к экспериментам на реальных биологических системах. В качестве объекта исследования были выбраны митохондрии печени. Выбор объекта был обусловлен ключевой ролью митохондрий в жизнеспособности клеток и регуляции ее функций. Кроме того, в ряде работ были получены данные свидетельствующие о сложных механизмах реализации антиоксидантной активности многих препаратов *in vivo*, которые далеко не ограничиваются способностью веществ выполнять просто функцию ловушки свободных радикалов.

<sup>&</sup>lt;sup>3</sup> Автор благодарит к.м.н. Семенову Елену Васильевну за помощь в проведении исследования



**Рисунок 27**. Скорость окисления линолевой кислоты в присутствии антиоксидантов (20 µM), t=37.0±0.1°C.

Так, было показано, что некоторые лекарственные препараты, не обладающие антиоксидантной активностью *in vitro* в стандартных тестах ингибирования свободо-радикальных реакций, проявляют высокую антиоксидантую активность в биологических модельных системах, в частности, в исследованиях на митохондриях. Предполагается наличие антиоксидантных сайтов связывания в гидрофобном ядре внутренней митохондриальной мембраны или в митохондриальном матриксе. Эти сайты могут принимать различные гидрофобные АФКнеродственные соединения, модулирующие ассоциированные митохондриальные процессы, независимо от активности по удалению свободных радикалов [130]. Существование таких механизмов может вносить весомый вклад в результирующий антиоксидантный эффект вещества. Кроме того, известно, что взвесь митохондрий (в отличие от гомогената клеток) может сохранять жизнеспособность при адекватных условиях хранения на протяжении всего эксперимента без добавления химических ве-

ществ, способных искажать результаты оценки антиоксидантах свойств, это позволяет получить наиболее достоверные результаты.

Эксперименты выполнены на беспородных половозрелых белых мышах обоего пола. Содержание животных соответствовало Правилам лабораторной практики (GLP) и Приказу МЗ РФ № 199Н от 01.04.2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных».

Митохондрии печени выделяли по методу А.В. Панова [131]. Митохондриальный белок определяли колориметрическим методом Бредфорда с использованием красителя Coomassie G250 [132].

Индуцирование окисления было реализовано путем генерации гидроксильных радикалов посредством широко используемой системы Fe<sup>2+</sup>/аскорбат [133], а контроль процесса ПОЛ осуществлялся путем оценки накопления малонового диальдегида (МДА) [134]. Исследования проводились для интервала концентраций от 3 до 40 µМ в сравнении с ресвератролом и 2-этил-6-метилприридинолом-3. Результаты проведенных исследований суммированы на рисунке 28.

Сопоставление относительных концентраций МДА у интактных животных и животных контрольной группы позволяет утверждать о статистически значимом росте концентрации ТБК чувствительных продуктов в условиях используемой модели ПОЛ, что говорит о ее валидности.

Анализируя общую картину следует отметить, что во всех случаях наблюдается достаточно четкая зависимость снижения продукции ТБК чувствительных соединении от концентрации вводимых в систему антиоксидантов. Однако если антиоксидантная активность ресвератрола и большинства его исследуемых синтетических аналогов проявляется уже на низких концентрациях (3-7 µM), то в случае эмоксипина и производного (**1**г) статистически значимое снижение уровня МДА начинает проявляться лишь при концентрациях более 20 µM.



Рисунок 28. Относительное содержание МДА при различных концентрациях соединений (1а-г, 2а-г)

На основании полученных данных были рассчитаны величины концентраций антиоксидантов, при которых происходит 50% ингибирование генерации ТБК чувствительных продуктов (табл. 9 и рис. 29). Максимальная ингибирующая активность наблюдается для соединений (**1**в) и (**2**в).

Со- еди- не- ние	рес- верат- рол	1a	2a	16	26	1в	2в	1г	2г	1д	2д
IC <sub>50</sub> ,	7.44	23.92	8.67	2.69	5.74	1.90	2.43	23.42	9.10	25.58	12.43
μΜ	$\pm 0.52$	$\pm 2.40$	$\pm 1.40$	$\pm 0.18$	$\pm 0.45$	$\pm 0.11$	±0.17	$\pm 1.19$	$\pm 0.45$	$\pm 0.98$	±0.64
lgIC <sub>50</sub>	0.871	1.378	0.938	0.429	0.758	0.278	0.385	1.369	0.959	1.407	1.094

Таблица 9. Величины IC<sub>50</sub> соединений (1а-г, 2а-г), определенные в тесте МДА



Рисунок 29. Относительное содержание МДА при различных концентрациях соединений (1а-г, 2а-г)

Была проведена сравнительная оценка результатов, полученных при исследовании антирадикальной активности в тесте ДФПГ с данными об антиоксидантных свойствах на модели ПОЛ мембран митохондрий (рис. 30).

Было установлено, что при оценке корреляционных зависимостей с использованием полного набора данных не наблюдается статистически значимой взаимосвязи исследуемых параметров. Однако, анализируя график, можно видеть экстремально большое значение параметра (выброс), относящегося к соединению (1д). В связи с этим была проведена «чистка» данных, в процессе которой наряду со значением для (1д) было удалено значение и для родственной структуры (2д), также выходящее за пределы диапазона М±25. В результате была выявлена корреляция между исследуемыми величинами (рис. 30,6).

Далее было построено корреляционное уравнение с использованием модели линейной регрессии, актуальность которой была оценена по трем критериям: коэффициент корреляции (R), значение коэффициента Фишера (F) и стандартное отклонение (s):

log IC<sub>50</sub> (MDA)= 0,462(±0.052)log IC<sub>50</sub> (DHHP) – 0,062(±0.106)  $n = 9; R^2 = 0.92; s = 0.13; F = 77.77$ 



Рисунок 30. Корреляционная зависимость  $lgIC_{50}(MDA)$  и  $lgIC_{50}(ДФПГ)$  соединений (1а-г, 2а-г): а - полный набор данных, б – после «чистки» данных

Таким образом, была подтверждена статистически существенная положительная корреляция между данными полученными в тесте ДФПГ и результатами биологических испытаний.

Анализируя причины особого поведения соединений (1д) и (2д), следует отметить, что при переходе от лабораторных тестов к биологическим системам важную роль начинают играть ADME характеристики. С учетом ранее полученных данных о кинетике окисления в липидных системах ключевой проблемой структур (1д) и (2д) является сочетание невысокой липофильности с большой площадью полярной поверхности молекул, что приводит (особенно в случае производного (1д)) к затруднению в проникновении через мембраны клеток (см. параметры Сасо-2 и MDCK в табл. 1).

## 2.6.3 Исследование влияния ресвератрола и его синтетических аналогов на митохондриальное дыхание

Учитывая вышеуказанную возможность более сложного влияния синтетических антиоксидантов на процессы митохондриального дыхания, отдельный интерес представляет исследование их воздействия на протеостаз – баланс синтеза и распада белков в митохондриях. Известно, что при ингибировании синтеза белков митохондриями происходит снижение уровня митохондриального дыхания и образования АФК, а также активируются процессы восстановления протеостаза. Поэтому «мягкое» нарушение работы митохондрий часто только стимулирует их и может положительно влиять на скорость старения и продолжительность жизни организма [135]. В тоже время, серьезное нарушение митохондриального дыхания играет важную роль в патогенезе повреждения клеток различных тканей организма. Поэтому попытка повлиять на митохондриальное дыхание в ту или иную сторону может приводить как к направленной цитопротекции и увеличению жизнеспособности клеток, так и ускорять клеточную гибель.

Исходя из этого для производных (**16**,**в**), показавших наибольшую антиоксидантную активность в ранее описанных тестах ПОЛ митохондрий, а также для их *N*-метилированных производных (**146**,**в**) (имеющих катионный центр – потенциальный вектор для проникновения в митохондрии) совместно с сотрудниками Института общей и экспериментальной биологии СО РАН<sup>4</sup> были проведены исследования влияния на митохондриальное дыхание.

<sup>&</sup>lt;sup>4</sup> Автор благодарит к.б.н. Торопову Анюту Алексеевну за помощь в проведении исследований

Эксперименты выполнены на 15 крысах обоего пола линии Wistar возрастом 8-10 недель. Содержание животных соответствовало Правилам лабораторной практики (GLP) и Приказу МЗ РФ № 199Н от 01.04.2016 г. «Об утверждении Правил надлежащей лабораторной практики». Экспериментальную работу осуществляли в соответствии с «Правилами, принятыми в Европейской конвенции по защите позвоночных животных».

Митохондрии головного мозга выделяли по методу А.В. Панова [131]. Среда выделения содержала маннитол (75 мМ), сахарозу (175 мМ), 3морфолинопропансульфоновую кислоту (MOPS; 10 мМ) рН = 7.2, этиленгликольтетрауксусную кислоту (ЭГТА; 1 мМ). Митохондриальный белок определяли колориметрическим методом с использованием Coomassie G250 (метод М. Бредфорда) [132].

Для получения максимальной активности окислительного фосфорилирования использовали среду инкубации, которая содержала 120 мМ KCl, 10 мМ NaCl, 2 мМ MgCl<sub>2</sub> ·6H<sub>2</sub>O, 2 мМ K<sub>2</sub>HPO<sub>4</sub>, 20 мМ MOPS (pH = 7.2), 1 мМ EGTA, 0.7 мМ CaCl<sub>2</sub> x 2H<sub>2</sub>O. Субстраты дыхания использовали в концентрациях: 5 мМ глутамат, 2.5 мМ пируват и 2.0 мМ малат. Окислительное фосфорилирование стимулировали, добавляя 150  $\mu$ M АДФ.

Дыхательную активность митохондрий оценивали полярографически с использованием амперометрического датчика растворенного кислорода.

Результаты представлены в таблице 10.

Согласно полученным данным ресвератрол в концентрации 10  $\mu$ M оказывал ингибирующее влияние на митохондриальное дыхание, уменьшая скорость потребления кислорода в MC-4<sub>0</sub> на 4%, в MC-3<sub>1</sub> на 23%, MC-4<sub>1</sub> на 11 %, MC-3<sub>2</sub> на 13%, при этом различия показателей в MC -3<sub>1</sub> по сравнению с контролем достигли статистической значимости. Что согласуется с результатами аналогичных исследований, проведенных ранее другими авторами. При изучении полученных нами синтетических аналогов ресвератрола (**16**) и (**18**) и их митохондриально-направленных солей (**146**) и (**14в**) были выявлены схожие тенденции к небольшому ингибированию митохондриального дыхания.

**Таблица 10**. Оценка влияния ресвератрола и его производных (в концентрации 10 µМ) на скорость окислительного фосфорилирования митохондриями мозга белых крыс

Исследуе-	Скорость дыхания ММ,				Лыхательный контроль		
мые	H	имоль О2/мі	ин/мг белка	a	дылат	сльный ког	проль
соединения	$MC-4_0$	MC-3 <sub>1</sub>	MC-41	MC-3 <sub>2</sub>	$V3_1/V4_0$	V3 <sub>1</sub> /V4 <sub>1</sub>	V3 <sub>2</sub> /V4 <sub>1</sub>
Vournouu	42.33	134.94	67.48	180.03			
контроль	±4.15	±15.03	±8.13	$\pm 10.18$			
Dechena	40.75	104.47	60.39	156.71	2.57	1.72	2.59
тесвера-	±1.43	±12.43	±6.30	±16.75	±0.17	±0.02	±0.01
трол	(-4%)	(-23%)*	(-11%)	(-13%)			
16	42.86 ±10.21 (+1%)	121.19 ±9.34 (-11%)	59.53 ±5.88 (-12%)	192.39 ±5.71 (+6%)#	2.64 ±0.57	2.06 ±0.21	3.26 ±0.45
1в	38.19 ±0.34 (-10%) <sup>#</sup>	114.58 ±1.01 (-15%)*	54.08 ±3.19 (-20%)*	168.62 ±9.53 (-7%)	2.47 ±0.53	1.82 ±0.30	2.62 ±0.49
146	30.82 ±5.45 (-28%)* <sup>#</sup>	113.47 ±25.69 (-16%)	48.56 ±22.27 (-29%)	168.53 ±44.21 (-7%)	3.66 ±0.08	2.56 ±0.37	3.85 ±0.35
14в	37.38 ±1.64 (-12%)	115.44 ±9.03 (-15%)	60.18 ±3.36 (-11%)	169.02 ±3.10 (-7%)	3.10 ±0.13	1.92 ±0.01	2.80 ±0.04

\* Достоверное различие по отношению к контролю

# Достоверное различие по отношению к ресвератролу (на основании двухвыборочного t-теста с различными дисперсиями)

Так, при добавлении к митохондриям производного (**16**) в концентрации 10  $\mu$ M отмечалось уменьшение скорости потребления кислорода в MC-3<sub>1</sub> на 11%, MC-4<sub>1</sub> на 12 %, при этом различия показателей с контрольной группой не достигли статистической значимости, однако в MC-3<sub>2</sub> отмечалось достоверно меньшее влияние данного вещества на скорость дыхания в сравнении с ресвератролом, в то время как по влиянию на скорость потребления в других метаболических состояний достоверных различий между ресвератролом и данным соединением выявлено не было, хотя и отмечалась тенденция к несколько более слабому ингибированию дыхания у данного синтетического аналога. На фоне добавления (**1B**) в концентрации 10  $\mu$ M отмечалось снижение скорости потребления кислорода в MC-4<sub>0</sub> на 10%, в MC-3<sub>1</sub> на 15%, MC-4<sub>1</sub> на 20%, MC-3<sub>2</sub> на 7%, при этом различия показателей в MC-3<sub>1</sub>, MC-4<sub>1</sub> достигли статистической значимости, а в MC-4<sub>0</sub> показатель также был досто-

верно ниже, чем в группе ресвератрола. Под воздействием митохондриальнонаправленных солей наблюдались схожие эффекты с некоторым усилением для (**146**) и сопоставимым действием для (**148**) в тех же концентрациях. Для (**146**) было выявлено снижение скорости потребления кислорода в MC-4<sub>0</sub> на 28%, в MC-3<sub>1</sub> на 16%, MC-4<sub>1</sub> на 29%, MC-3<sub>2</sub> на 7%, при этом различия показателей в MC-4<sub>0</sub> достигли статистической значимости как в сравнении с контролем, так и в сравнении с ресвератролом. Для (**14в**) было выявлено снижение скорости потребления кислорода в MC-4<sub>0</sub> на 12%, в MC-3<sub>1</sub> на 15%, MC-4<sub>1</sub> на 11%, MC-3<sub>2</sub> на 7%, при этом различия показателей не достигли статистической значимости как в сравнении с контролем, так и в сравнении с ресвератролом.

Таким образом, было подтверждено, что ресвератрол обладает способностью ингибировать митохондриальное дыхание в митохондриях мозга крыс. Сопоставимые эффекты были установлены для изученных синтетических аналогов с тенденцией к более слабому ингибированию под влиянием вещества (16) и (14в) и несколько более сильным эффектом для веществ (1в) и (14б). Отсутствие однонаправленности изменения эффекта для синтетических аналогов и их митохондриально-направленных солей требует дальнейшего изучения.

Небольшое ингибирование скорости митохондриального дыхания в условиях окислительного стресса может способствовать нормализации митохондриальной функции и снижению негативных последствий для клетки в целом, ввиду чего следует рассматривать эффекты ресвератрола и исследуемых аналогов ресвератрола в отношении митохондриального дыхания как цитопротективные.

### 2.7 Исследование комплексообразующих свойств

Известно, что наряду с непосредственным взаимодействием с радикальными частицами антиоксидантное действие соединений может быть реа-

лизовано иными путями, например, ингибированием процесса генерации AФK, в частности, хелатированием ионов переходных металлов, принимающих активное участие на начальных этапах процесса. Среди соединений полифенольной структуры, прежде всего, обращают на себя внимание такие известные антиоксиданты со способностью к связыванию ионов металлов, как галловая кислота, кофейная кислота, кверцетин, рутин, катехин и их производные [136-145], являющиеся производными пирокатехина и пирогаллола. Учитывая наличие в структуре соединений (**1в**,д), (**2в**,д), (**3в**) и (**4в**) аналогичных фрагментов, можно предположить для них возможность образования комплексов с ионами переходных металлов, прежде всего, ионами  $Fe^{2+}$ . Поэтому следующим этапом стало изучение возможности комплексообразования (**14в**,д), (**2в**,д), (**3в**) и (**4в**), а также *N*-метильных производных (**14в**,д) с ионами  $Fe^{2+}$ .

Отметим, что существует множество методов оценки комплексообразующих свойств и установления состава комплексов, при этом одними из наиболее удобных и часто используемых являются спектральные методы, в частности, метод изомолярных серий (метод Жоба) [146]. Сущность метода Жоба заключается в оценке зависимости оптической плотности образца от мольной доли лиганда и определение максимума этой зависимости при условии сохранения постоянства общей концентрации металла и лиганда.

Для реализации этого подхода была приготовлена серия водноспиртовых изомолярных растворов соединения (**1**в). Полученные для них спектры поглощения в видимой и УФ областях представлены на рис. 31.

Для установления состава комплекса методом изомолярных серий была выбрана длина волны  $\lambda$ = 416 нм, соответствующая поглощению комплекса и минимальному поглощению остальных компонентов, и построен график зависимости оптической плотности при этой длине волны от содержания соединения (**1**в) (рис.31).

К линейным участкам полученной зависимости были проведены касательные, точка пересечения которых соответствует составу комплекса FeL<sub>2</sub>.

Аналогичным образом были получены и обработаны экспериментальные данные (см. рис. 32–34) для соединений (1д) и (2в,д).



Рисунок 31. Спектры в УФ- и видимой области для изомолярных растворов соединение (1в) – железо (II) с общей концентрацией 40 μМ и зависимость оптической плотности растворов от концентрации (1в)


Рисунок 32. Спектры в УФ- и видимой области для изомолярных растворов соединение (1д) – железо (II) с общей концентрацией 40 μМ и зависимость оптической плотности растворов от концентрации (1д)



Рисунок 33. Спектры в УФ- и видимой области для изомолярных растворов соединение (2в) – железо (II) с общей концентрацией 40 μМ и зависимость оптической плотности растворов от концентрации (2в)



Рисунок 34. Спектры в УФ- и видимой области для изомолярных растворов соединение (2д) – железо (II) с общей концентрацией 40 μМ и зависимость оптической плотности растворов от концентрации (2д)

Согласно полученным данным соединения (1в) и (2в) образуют комплексы состава FeL<sub>2</sub>, а производные (1д), (2д) – FeL<sub>3</sub>.

Далее представленные выше спектры поглощения серий растворов были использованы для оценки состава комплексов методом изобестической точки. Так при анализе спектров, представленных на рис. 31, была определена длина волны изобестической точки – 367 нм и построен график зависимости оптической плотности от содержания соединения (**1**в) при этой длине волны (рис. 35).

Определение точки пересечения касательных, проведенных к линейным участкам графика, представленного на рис. 35, дало значение отношения железо (II)/лиганд (**1**в) в комплексе, равное 1:2. Аналогичное отношение было получено и для лиганда (**2**в). В случае остальных комплексов расчетное отношение металл/лиганд составило 1:3.



Рисунок 35. Зависимость оптической плотности растворов от концентрации соединений (1в,д), (2в,д) для изомолярных смесей (метод изобестической точки)

Аналогичные эксперименты были проведены и с *N*-метилированными производными (**14**в,д) (рис. 36 - 38).



Рисунок 36. Спектры в УΦ- и видимой области для изомолярных растворов соединение (14в) – железо (II) с общей концентрацией 40 µМ и зависимость оптической плотности растворов от концентрации (14в)



Рисунок 37. Спектры в УФ- и видимой области для изомолярных растворов соединение (14д) – железо (II) с общей концентрацией 40 μМ и зависимость оптической плотности растворов от концентрации (14д)



Рисунок 38. Зависимость оптической плотности растворов от концентрации соединений (14в,д) для изомолярных смесей (метод изобестической точки)

Было установлено, что соединения (14в) и (14д) формируют с ионами Fe<sup>2+</sup> комплексы состава 2:1.

Исследование комплексообразующих свойств соединений (**3**в) и (**4**в) показывает, что по прошествии 40 минут спектры смесей, содержащих указанные лиганды и ионы  $Fe^{2+}$ , не претерпевают существенных изменений, что свидетельствует об их менее выраженных комплексообразующих свойствах. По истечении 24 ч для растворов, содержащих (**3**в), наблюдалось уменьшение оптической плотности в области 250-300 нм и ее увеличение при 330-350 нм (рис. 39). Отметим, что причины такого медленного комплексообразования требуют уточнения. Анализ данных показывает, что состав комплекса определяется соотношением лиганд:железо (II) 2:1. Аналогичные результаты получены и для соединения (**4**в) (рис. 40, 41).



Рисунок 39. Спектры в УФ- и видимой области для изомолярных растворов соединение (3в) – железо (II) с общей концентрацией 40 μМ и зависимость оптической плотности растворов от концентрации (3в)



Рисунок 40. Спектры в УФ- и видимой области для изомолярных растворов соединение (4в) – железо (II) с общей концентрацией 40 μМ и зависимость оптической плотности растворов от концентрации (4в)



Рисунок 41. Зависимость оптической плотности растворов от концентрации соединений (3в), (4в) для изомолярных смесей (метод изобестической точки)

Мы также попытались оценить комплексообразующие свойства ресвератрола и аналога (16), не содержащего катехолового фрагмента. Однако, в этих случаях наблюдались лишь обусловленные ростом концентраций исследуемых соединений увеличения интенсивностей поглощения без изменения их характера (рис. 42), что свидетельствует об отсутствии процессов комплексообразования.





Еще одним методом относительной оценки комплексообразующей способности полифенолов является сравнение эффективности связывания металла с исследуемым и стандартным лигандом. Для ионов Fe<sup>2+</sup> в качестве стандартного лиганда часто выступает феррозин [147].

Нами была проведена подобная оценка. С этой целью растворы исследуемых соединений были инкубированы с раствором сульфата железа (II) в течение 20 минут, а затем с феррозином в течение 20 минут и измерена оптическая плотность конечных растворов при длине волны, характерной для железо-феррозинового комплекса ( $\lambda$ =562 нм).

Как видно из рис. 43, в наибольшей степени ингибирующее влияние на образование комплекса феррозин-железо наблюдается для соединений, содержащих 3 гидроксильные группы, что говорит о их высокой комплексообразующей способности. Соединения (1в) и (2в) показали меньшую комплексообразующую активность.



Рисунок 43. Зависимость степени ингибирования образования комплекса железо-феррозин от концентрации соединений (1в,д), (2в,д), (3в), (14д)

Результаты всех проведенных экспериментов по установлению состава и прочности комплексов обобщены в таблице 11.

Анализ результатов позволяет выявить следующие закономерности. В случае лигандов (1в) и (2в), содержащих катехоловый фрагмент, формируются комплексы состава FeL<sub>2</sub>, в то время, как с лигандами (1д) и (2д), имеющими в структуре пирогаллоловый фрагмент, более предпочтительными оказываются комплексы с соотношением металл / лиганд 1:3. Комплексы второго типа при этом оказываются более прочными (относительно комплекса феррозин-железо).

Соединение	Метод изомолярных серий, n	Метод изобестиче- ской точки, n	IC <sub>50</sub> относительно комплекса феррозин- железо
1в	2	2	29.4
1д	3	3	7.3
2в	2	2	27.3
2д	3	3	7.6
14в	2	2	> 300
14д	2	2	25.7
3в	2	2	34.1
4в	2	2	_

Таблица 11. Данные экспериментов о составе и прочности комплексов

### 2.8 Исследование фотофизических свойств

Флуорогенные антиоксиданты-индикаторы привлекают большое внимание исследователей в качестве потенциальных неинвазивных систем пространственного и временного мониторинга окислительного состояния в живой клетке на уровне органелл с целью лучшего понимания взаимосвязи между процессами генерации АФК и их биологическими эффектами. С учетом литературных данных для исследуемых соединений можно ожидать достаточно выраженные флуоресцентные свойства. Исходя из этого, следующей задачей работы стала экспериментальная оценка фотофизических свойств синтезированных аналогов.

Учитывая наличие в молекулах выраженных кислотных и основных

центров и безусловное влияние характера ионизации структур на их фотофизические свойства изучение характеристик адсорбции и эмиссии для всех производных проводилось в трех системах: нейтральном этаноле, а также в растворителе с добавкой 0.1 М HCl и 0.1 М KOH [148]. Обобщенные данные приведены в таблица 12.

Соединение	Среда	$\frac{\lambda_{\text{max}}}{\lambda_{\text{max}}} = \frac{\varepsilon \times 10^{-4}}{\varepsilon \times 10^{-4}} = \lambda_{\text{max}}$			(•), (-•)	
		нм	л моль <sup>-1</sup> см <sup>-1</sup>	HM	Δλ	$\varphi_{f}^{*}$
1a	нейтральная	318	3.07	378	60	0.140
	<b>F</b>	346	1.75	427	81	0.014
	кислая	300	1.16	365	65	0.090
	основная	330	1.79	438	108	0.023
16	нейтральная	329	2.98	411	83	0.014
	кислая	369	1.58	496	127	0.007
	основная	352	2.32	432	80	0.010
	нейтральная	337	2.94	426	89	0.029
	• • •	305	1.16	362	57	0.037
1в	кислая	385	2.66	497	112	0.002
		317	1.80	535	218	0.065
	основная	463	1.26	534	91	0.162
	нейтральная	322	2.44	423	101	0.020
	•	356	2.24	401	55	0.003
IΓ	кислая	310	1.32	362	52	0.059
	основная	346	2.58	410	64	0.005
	нейтральная	337	2.54	430	93	0.019
1	•	303	0.95	370	67	0.008
Ід	кислая	390	2.23	516	126	0.001
	основная	381	0.91	488	107	0.003
	нейтральная	322	3.08	379	57	0.137
2-	кислая	311	1.48			
2a		349	2.80	420	71	0.009
	основная	352	3.70	455	103	0.017
26	нейтральная	331	3.23	394	63	0.010
	кислая	290	1.10			
		365	1.95	479	114	0.004
	основная	361	5.48	432, 545	71	0.005
2в	нейтральная	336	2.42	408	72	0.018
	кислая	305	1.38			
		381	2.28	508	127	0.003
	основная	311	2.60	410	99	0.003
		426	1.18	548	122	0.002
2Γ	нейтральная	324	2.53	388	64	0.029
	кислая	307	1.43			
		358	2.38	430	72	< 0.001

Таблица 12. Фотофизические свойства соединений (1)-(4), (14)

	основная	349	3.33	443	94	< 0.001
	нейтральная	339	1.34	417	78	0.012
2д		305	1.10			
	кислая	375	1.20	495	120	0.001
		307	1.93	404	97	0.002
	основная	375	1.58		2.	
	нейтральная	269	2.38	347	78	0.009
36	кислая	267	3.35	365	98	0.006
	основная	290	3.15	347	57	0.005
	нейтральная	266	1.75	339	73	0.015
•	кислая	267	3.45	364	97	0.006
3в		264	1.78	375	111	0.015
	основная	326	1.45			
	нейтральная	328	2.80	371	43	0.062
4б	кислая	338	3.08	385	47	0.104
	основная	355	3.18	440	85	0.018
	нейтральная	335	3.55	381	46	0.125
4-	кислая	351	2.73	411	60	0.044
<b>4</b> B		365	0.45	432	67	0.031
	основная	428	0.53			
14a		273	1.93			
	неитральная	351	1.28	425	74	0.005
		278	2.03	350	72	0.004
	кислая	362	1.15			
	основная	354	1.63	427	73	0.004
146		288	1.60			
	неитральная	364	1.55	446	82	0.002
	KHOHOG	289	0.93	359	70	0.008
	кислая	367	0.98			
	O O U O D U O Ø	320	1.53			
	основная	420	1.48	547	127	0.001
14в	нейтральная	312	1.53			
		374	1.63	467	93	0.003
	киспад	298	1.80	360	62	0.004
	Кислая	384	1.58			
	основная	359	1.88			
	осповная	447	2.25	536	89	< 0.001
14г	нейтральная	281	2.05			
	пентральная	354	1.30	430	76	0.004
	киспая	279	1.73	394	115	0.005
	Кнезии	352	0.88			
	основная	305	1.55	336	31	0.003
	Ссповная	390	1.45			
14д	нейтральная	304	1.75			
	пситральная	378	1.78	498	120	0.005
	киспая	300	1.35	518	218	0.005
	кнолил	393	1.38			
	основная	382	1.55	431	49	< 0.001

\* Квантовые выходы были рассчитаны в соответствии с методикой [149] с использованием в качестве стандарта 2-аминопиридина в H<sub>2</sub>SO<sub>4</sub> [150]

### 2.8.1 Производные со стильбазольным остовом

В нейтральных условиях в этаноле (табл. 12, рис.44), гидроксизамещенные стильбазолы в целом показывают близкие по структуре спектры, с максимумом поглощения в районе 330 нм. При этом четко прослеживается смещение сигнала в красную область в случае наличия гидроксильной группы в 4 положении бензольного кольца, достигающее максимальных величин при одновременном присутствии гидроксила и в положении 3. В спектрах соединений (**1а-д**), (**2а-д**) проявляется более выраженное плечо в коротковолновой области.

При переходе в кислую или основную среды интенсивность поглощения существенно снижается. В кислой среде, как правило, наблюдается появление двух новых полос в интервалах 300-310 нм и 340-390 нм, соответственно. Причем более длинноволновая полоса имеет большую интенсивность. В основной среде исследованные соединения показывают новую длинноволновую полосу поглощения. Однако, следует отметить существенное отличие спектров поглощения для соединений (**1в,д**) и (**2в,д**) в щелочной среде по сравнению с остальными производными. Причиной этого, вероятно, служит процесс деградации этих соединений. Важно отметить, что во всех остальных случаях процесс взаимопревращения различных ионизированных форм соединений (**1**) и (**2**) оказывается полностью обратимым, что доказывает восстановление исходных спектров поглощения при возвращении соответствующей pH среды.

При переходе от соединений (1а-д) к их *N*-метилированным производным (14а-д) характер спектров поглощения меняется – наблюдаются два выраженных максимума в области 260-300 нм и 350-380 нм. В кислой среде значительных изменений не происходит. В основных условиях в случае производных (14а, д) более коротковолновый максимум становится менее выраженным, а для соединений (14б, в) происходит сдвиг длинноволновой полосы поглощения до 420-450 нм.



Рисунок 44. УФ спектры соединений (1а-д), (2а-д) и (14а-д) (4 µМ в этаноле) (зеленый – в нейтральной среде, красный – в кислой, синий – в щелочной)

Далее были оценены флуоресцентные свойства производных (**1а**-д) и (**2а**-д). На основании проведенных экспериментов можно сделать несколько обобщений: максимумы излучения и интенсивности во всех случаях демонстрируют сильную зависимость от pH среды, наблюдается ярко выраженный красный сдвиг при переходе от нейтральных к кислотным или основным условиям. Так, если в нейтральной среде эмиссия происходит в интервале 378-430 нм, то в основной – полосы излучения, как правило, смещаются в область 438-535 нм, а кислой – в область 427-516 нм.

Для определения эффективности флуоресценции были вычислены квантовые выходы, значения которых приведены в таблице 11. Установлено, что введение гидроксильной группы в 3-положение пиридинового кольца приводит к росту квантового выхода примерно на порядок. При этом максимальное значение наблюдалось для соединения (1а). В тоже время, введение гидроксильных групп в бензольный фрагмент (особенно в положение 4) приводило к некоторому снижению интенсивности флуоресценции. Также было установлено, что в большинстве случаев снижению квантового выхода способствовало протонирование атома азота или депротонирование гидроксильных групп. Исключение составило поведение соединения (1в). В щелочной среде для него наблюдалось выраженное увеличение интенсивности флуоресценции и существенное отличие полосы эмиссии по сравнению с другими производными. Этот факт также свидетельствует об указанном выше процессе деградации структуры этого соединения в сильнощелочной среде.

В спектрах флуоресценции соединений (14а-д) наблюдаются максимумы в области 420-500 нм (рис. 45), и, в целом, прослеживаются те же закономерности, что для соединений (1а-д): сдвиг полосы флуоресценции в более длинноволновую область и снижение интенсивности при увеличении количества ОН-групп. Важным обстоятельством является низкая интенсивность флуоресценции для соединений (14а-д), что не позволяет их позиционировать в качестве флуоресцентных датчиков.



Рисунок 45. Спектры флуоресценции соединений (1а-д) (4 µМ в этаноле): (зеленый – в нейтральной среде, красный – в кислой, синий – в щелочной)

2.8.2 Имидазолы (3б,в) и производные имидазо[4,5-*b*]пиридина (4б,в)

Для дизамещенных имидазолов (**36,в**) и производных имидазо[4,5-*b*]пиридина (**46,в**) были проведены аналогичные исследования.

Спектры поглощения для нейтральных этанольных растворов соединений (**36**,**в**) имели однотипных характер с максимумом поглощения в интервале 260-270 нм и плечом в области 300 нм (рис. 46). В аналогичных спектрах производных (4**6**,**в**) идентифицировался один максимум в пределах 320-340 нм (рис. 47).

В кислой среде характер всех спектров сохраняется с незначительным изменением интенсивности полос поглощения и незначительным батохромным сдвигом. В основной среде для *пара*-гидроксизамещенных производных (**36**), (**46**) изменения были обусловлены лишь сдвигом полосы поглощения до 290 и 355 нм, соответственно. Для производных (**3в**), (**4в**) наблюдались более существенные изменения: появление двух максимумов при 264, 326 и 365, 428 нм, соответственно, как это происходило с соединением (**1в**).

Для исследуемых производных были записаны спектры флуоресценции. Отметим, что все исследуемые производные обладают флуоресценцией с эмиссией в фиолетовой области (350-450 нм) (рис. 46, 47). При этом анализ спектров показывает, что наиболее интенсивная флуоресценция характерна для соединений (**46**,**в**). Наблюдаемый Стоксов сдвиг лежит в интервале 40-50 нм для производных имидазо[4,5-*b*]пиридина (**46**,**в**) и 70-80 нм для дизамещенных имидазолов (**36**,**в**).



Рисунок 46. Спектры поглощения (а,в) и спектры флуоресценции (б,г) соединений (36,в) (4 µМ в этаноле): (зеленый – в нейтральной среде, красный – в кислой, синий – в щелочной)

Установлено, что в случае гидроксилированных производных (**36**,**в**) и (**46**,**в**) переход в как в кислую, так и в основную среды приводит к батахромному смещению максимумов эмиссии без существенного изменения интенсивности флуоресценции соединений (**36**,**в**). Для производных имидазо[4,5-b]пиридина переход в щелочную среду приводит к резкому снижению интенсивности флуоресценции, а в кислой среде в случае 4-замещенного производного (**46**) фиксируется увеличение интенсивности флуоресценции, а для 3,4-замещенного производного (**4в**), напротив, ее снижение.



Рисунок 47. Спектры поглощения (а,в) и спектры флуоресценции (б,г) соединений (46,в): (4 µМ в этаноле): (зеленый – в нейтральной среде, красный – в кислой, синий – в щелочной)

# 2.8.3 Оценка влияния pH и окислителей на фотофизические свойства стильбазола (1в)

Особое поведение соединения (**1**в) побудило нас более детально изучить вопрос о зависимости его спектров поглощения и испускания от изменения pH среды. В сильно щелочных средах, вероятно, происходит полимеризация или гидратация по двойной связи стильбазолов, содержащих катехоловый фрагмент. В то же время для подобного рода дифенолов хорошо известен факт аутоокисления в соответствующие *орто*-хиноны при pH>7.5 [151]. В таком случае существует перспектива использования наблюдаемых изменений с целью мониторинга окислительного состояния в живых системах.

Нами был проведен ряд экспериментов в водной среде. Для поддержания pH были использованы стандартные фосфатные и боратные буферные системы. Спектры поглощения соединения (**1**в) при разных значениях pH представлены на рисунке 48.



Рисунок 48. УФ спектры соединения (1в) (25 µМ в фосфатном буфере) при разных значениях рН

В нейтральной среде в соответствующих буферных системах наблюдаются идентичные спектры поглощения с максимумом при 330 нм и плечом в более коротковолновой области. При переходе в кислую среду, как и в случае спиртового раствора, наблюдается сдвиг максимума в более длинноволновую область при общем сохранении формы пика. Этот процесс может контролироваться и обратимо смещаться вперед или назад с помощью кислотноосновного титрования. При pH ≥7.5 первоначально форма спектра оставалась сходной с таковой для нейтральной среды при небольшом батохромном сдвиге максимума поглощения, однако с течением времени характер спектра резко менялся, и наблюдались два новых максимума поглощения в областях 300 нм и 430 нм. Скорость этого изменения существенно возрастала при переходе к более высоким значениям pH. Интересно отметить, что при замене буферной системы с фосфатной на боратную при тех же значениях pH в щелочной области процесс изменения был более длительным (см. рис. 49), а появления окраски не наблюдалось.



Рисунок 49. УФ спектры соединения (1в) (25 µМ в боратном буфере) при разных значениях рН

Вероятным объяснением этого факта является взаимодействие катехолового фрагмента с борной кислотой в щелочной среде, что приводит к образованию обратимого катехолато-боратного комплекса, частично защищающего соединение от дальнейшего окисления [152].



Подтверждение данного факта можно найти и при изучении спектров флуоресценции (рис. 50).



Рисунок 50. Спектры флуоресценции соединения (1в): а - (4 µМ в фосфатном буфере), б - (4 µМ в боратном буфере) при разных значениях рН

Установлено, что при переходе из нейтральной среды в кислую интенсивность флуоресценции значительно падает без существенного изменения ее максимума, в тоже время в средах с pH≥7.5 со временем происходит резкое увеличение интенсивности флуоресценции со сдвигом максимума в зеленую область. С ростом pH процесс существенно ускоряется. В случае боратного буфера максимум флуоресценции остаётся в синей области спектра, а ее интенсивность растет не так значительно.

Таким образом, вероятной причиной интенсивной флуоресценции в щелочной среде является образование *орто*-хинона и/или продуктов его дальнейшей деградации.

Установленный факт побудил нас провести исследования возможности использования производного (**1B**) в качестве флуоресцентного зонда. Прежде всего, нами было изучено влияние действия различных окислителей, восстановителей и АФК на флуоресцентные свойства производного (**1B**). С этой целью к 20 µM растворам исследуемого соединения в фосфатном буфере (pH=7.4) добавляли заранее приготовленные растворы с определенной концентрацией окислителя или АФК. Для генерации АФК были использованы стандартные системы, представленные в литературе, и описанные в экспериментальной части.

В нативном виде спектр флуоресценции соединения (**1**в) характеризуется невысокой интенсивностью с максимумом эмиссии при 434 нм (рис. 51). Добавление таких окислителей, как <sup>1</sup>O<sub>2</sub>, NO, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> приводит к существенным изменениям в спектре, отражающимся в батахромном сдвиге максимума до 517 нм и росте интенсивности флуоресценции. Аналогичные изменения спектральных характеристик происходили в растворе стильбазола (**1**в) при длительном хранении и без добавления окислителей, что говорит о возможности аутоокисления соединения.

Остальные окислители ('OH, NaOCl, Fe<sup>2+</sup>, Fe<sup>3+</sup>, Cu<sup>+</sup>, Cu<sup>2+</sup>) давали депрессию интенсивности флуоресценции (рис. 52).

На рис. 53 представлены наблюдаемые визуально изменения в интенсивности и характер флуоресценции указанных образцов при УФ-облучении с длиной волны 365 нм.



Рисунок 51. Спектры флуоресценции раствора соединения (1в) и в присутствии различных реагентов



Рисунок 52. Интенсивности флуоресценции соединения (1в) в присутствии различных реагентов



(1в) + O<sub>2</sub> + HO<sub>2</sub> + Fe<sup>2+</sup> + Cu<sup>2+</sup> + NO + H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> + OCl<sup>-</sup> + Fe<sup>3+</sup> + Cu<sup>+</sup> + OH
 Рисунок 53. Растворы соединения (1в) в присутствии различных окислителей в УФ - камере

Таким образом, стильбазол (**1**в) изменяет свои свойства под воздействием четырех агентов – NO, O<sub>2</sub><sup>•-</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, <sup>1</sup>O<sub>2</sub>.

Для указанных случаев были исследованы концентрационные зависимости интенсивностей флуоресценции.

Так в случае пероксида водорода было установлено, что интенсивность флуоресценции возрастает с ростом концентрации агента во всем исследуемом диапазоне (рис.54), однако линейность этой зависимости сохраняется лишь в интервале от 0 до 250 µМ.





Изменение интенсивности флуоресценции в указанном диапазоне наблюдается и визуально (рис. 55).



Рисунок 55. Серия растворов соединения (1в) при различных концентрациях H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> в УФ-камере

Аналогичные измерения были проведены для NO,  ${}^{1}O_{2}$  и  $O_{2}^{-}$ . Полученные данные представлены на рисунках 56-58.



Рисунок 56. Спектры флуоресценции соединения (1в) (20 µМ) в присутствии различных концентраций NO в фосфатном буфере и зависимость интенсивности флуоресценции соединения (1в) от концентрации NO



Рисунок 57. Спектры флуоресценции соединения (1в) (20 µМ) в присутствии различных концентраций <sup>1</sup>О<sub>2</sub> в фосфатном буфере и зависимость интенсивности флуоресценции соединения (1в) от концентрации <sup>1</sup>О<sub>2</sub>



Рисунок 58. Спектры флуоресценции соединения (1в) (20 μМ) в присутствии различных концентраций O<sub>2</sub><sup>-</sup> в фосфатном буфере и зависимость интенсивности флуоресценции соединения (1в) от концентрации O<sub>2</sub><sup>-</sup>

Отметим, что линейный характер повышения интенсивности флуоресценции при увеличении концентраций АФК сохраняется для  $O_2$  во всем исследуемом диапазоне (до 30 µM), для  $^1O_2$  до 500 µM, а для NO до 1500 µM. Полученные результаты подтверждаются визуальными наблюдениями в УФ-камере (рис. 59).

а



**Рисунок 59**. Серия растворов соединения (**1**в) в УФ-камере в присутствии разных концентраций а - NO (0-2500 µM); б- <sup>1</sup>O<sub>2</sub> (0-1000 µM); в- <sup>•</sup>O<sub>2</sub> (0-30 µM)

Низкая токсичность исследуемых соединений и наличие при УФоблучении эмиссии в видимой области побудило нас к проведению экспериментов по оценке их потенциала в качестве флуоресцентных зондов для систем флуоресцентного биоимиджинга – активно развивающегося направления, основанного на использовании современных цифровых технологий в сочетании с микроскопией для изучения биологических процессов (хемотаксис, пролиферация, апоптоз, межклеточное взаимодействие, клеточный цикл) в динамике. Эксперименты были проведены совместно с сотрудниками медицинского института НИ МГУ им. Н. П. Огарева.<sup>5</sup> Как и в случае МТТ теста в качестве клеточной культуры выступали фибробласты мыши L929.

Первоначально клеточные культуры инкубировались с растворами соединений (**1а-д**) и далее проводилась регистрация изображений посредством флуоресцентного микроскопа через определённые промежутки времени (0, 10, 30, 60 и 120 мин, соответственно). Установлено, что максимальная флуоресценция достигается примерно к 30 мин и далее остается относительно стабильной (см. рис. 60).



**Рисунок 60.** Результаты флуоресцентной микроскопии фибробластов без обработки (Контроль) и при обработке соединениями (**2а-**д) соответственно

<sup>&</sup>lt;sup>5</sup> Автор благодарит к.м.н. Минаеву Ольгу Владимировну за помощь в работе с клеточными культурами

Анализ изображений показывает, что все исследуемые соединения способны проникать внутрь фибробластов и давать в большинстве случаев интенсивную синюю флуоресценцию, в то время как контрольные клетки не показали существенной флуоресценции. Таким образом, исследуемые вещества способны взаимодействовать с клетками фибробластов, не повреждая и не убивая их. Примечательно, что исследуемые соединения по-разному проникают в цитоплазму и ядрышко фибробластов. Так, в случае обработки соединением (**16**), хорошо заметна разница между флуоресцентным излучением цитоплазмы и ядра. Эта особенность люминесцентного рисунка, и достаточно качественные изображения клеток, особенно полученные инкубированием с соединением (**16**), открывают перспективы для использования исследуемых веществ в одно- или многоцветном флуоресцентном биоимиджинге.

#### 3 Экспериментальная часть

Спектры ЯМР <sup>1</sup>Н и <sup>13</sup>С (а также НМВС (<sup>1</sup>Н-<sup>15</sup>N), NOESY эксперименты) регистрировали на приборе Jeol JNM-ECX400 (400 МГц, 100 МГц, соответственно) в CDCl<sub>3</sub> и ДМСО-d<sub>6</sub>, внутренний стандарт - остаточные сигналы протонов дейтерированного растворителя.

Запись спектров поглощения проводили на приборе «Shimadzu UV2600 Vis», толщина поглощающего слоя – 10 мм; запись спектров флуоресценции - на приборе RF-5301 PC (Shimadzu), толщина кюветы – 10 мм

ГХ-МС анализ проводили на приборе Thermo Scientific ISQLT, газноситель – гелий, 1 мл/мин (сплит 1/40), ионизация производилась электронным ударом (70 эВ), температурный режим анализа – градиентный (от 70°С до 250°С, 10°С/мин). Обработка хроматограмм осуществлялась в программе Xcalibur 3.

Масс-спектры (ESI) получены на масс-спектрометре Thermo Scientific MSQ Plus в режиме регистрации положительных (отрицательных) ионов (температура источника 350 °C, газ-небулайзер – азот, поток газа 50 л/мин, напряжение на игле 4.5 кВ, напряжение на конусе 75 В, сканирование в диапазоне 100-400 Да со скоростью 2 скан/с). Элюент - смесь ацетонитрила и 0.1%-ной муравьиной кислоты в соотношении 60:40, скорость потока 0.05 мл/мин.

Рентгенофлуоресцентный анализ выполнен на рентгенофлуоресцентном спектрометре ARL PERFORM'Х 4200.

Для рентгеноструктурного исследования соединения (**1**в) был использован монокристалл размером  $0.612 \times 0.268 \times 0.114$  мм желтого цвета, выращенный из смеси хлористый метилен - метанол. Массив дифракционных отражений (всего 26544 рефлексов) получен на автоматическом четырёхкружном дифрактометре Rigaku XtaLab, MM003, P200K при 100(2) K (монохроматор MicroMax-003, MoK $\alpha$ -излучение,  $\lambda$  0.71073 Å,  $\omega$ -сканирование). Область сканирования по  $\theta$  1.897 - 26.365, диапазон индексов -26  $\leq$  h  $\leq$  26, -11  $\leq$  k  $\leq$ 

11, -13  $\leq 1 \leq 13$ ). После усреднения эквивалентных отражений получено 2122 (Rint 0.0818) независимых отражения и 1867 отражений с I>2 $\sigma$ (I). Кристаллы соединения (**1**в) ромбические, а 21.470(3) Å, b 9.2274(14) Å, с 10.6182(11) Å,  $\alpha$  90°,  $\beta$  90°,  $\gamma$  90°, V 2103.6(5) Å3, Z 8, Dx 1.448 г/см3,  $\mu$  0.104 мм–1, F(000) 960, пространственная группа P с с п. Первичный фрагмент структуры найден методом двойного пространства в программных комплексах SHELX [153] и ShelXle [154]. Параметры остальных атомов определены по разностному синтезу электронной плотности и уточнены по  $|F|^2$  методом наименьших квадратов. Число независимых уточняемых параметров 163, GOOF 1.178. Остаточная электронная плотность  $\rho$ min/ $\rho$ max -0.695 / 0.538 e·Å<sup>-3</sup>. Окончательные факторы недостоверности: R<sub>1</sub> = 0.0943, wR<sub>2</sub> = 0.2196 (для F<sub>2</sub> > 2  $\sigma$ (F2)), R<sub>1</sub> = 0.1013, wR<sub>2</sub> = 0.2228 (для всех рефлексов). Форма образца (габитус): призма.Данные рентгеноструктурного исследования соединения (**1**в) депонированы в Кембриджском банке структурных данных (СССС 2363845).

Измерение скорости поглощения кислорода проводили с помощью анализатора кислородного обмена биообъектов Hansatech Oxygraph Plus.

ТСХ анализ проводили на пластинах Sorbfil ПТСХ-АФ-А-УФ, проявление - УФ облучение. Адсорбент для колоночной хроматографии силикагель 0.04-0.063 мм марки Kieselgel 60 Macherey-Nagel.

Микроволновые синтезы проводили в реакторе «Monowave 300» в специальных плотно укупоренных ампулах из боросиликатного стекла.

### 3.1 Синтез вспомогательных реагентов

Диазометан получали из нитрозометилмочевины [155]. Оксид меди (I) получали по методике [156].

### 3.2 Синтез стильбазольных аналогов

### Получение (Е)-2-(4-Метоксистирил)пиридина (7б)

Смесь 0.93 г, (10 ммоль) пиколина-2, 1.36 г (10 ммоль) 4метоксибензальдегида и 1 г (7.35 ммоль) ZnCl<sub>2</sub> нагревали в микроволновом реакторе в течение 0.5 ч при 200°С. После охлаждения к реакционной смеси добавляли ацетон, осадок отфильтровывали, а фильтрат выпаривали. Затем к осадку добавляли 10 см<sup>3</sup> воды, 25 см<sup>3</sup> концентрированного раствора аммиака и кипятили. После охлаждения смесь экстрагировали хлористым метиленом, экстракт сущили безводным сульфатом магния, растворитель упаривали.



Кристаллы кремового цвета. Выход 0.27 г (12%). Спектральные данные совпадают с данными, описанными в <sup>ОСН</sup><sup>3</sup> литературе [157].

### Получение (Е)-4-(2-(пиридинил-2)винил)фенола (8)

К раствору 0.13 г (0.62 ммоль) стильбазола (76) в 30 см<sup>3</sup> CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>, охлажденному до -10°C, в атмосфере аргона при перемешивании по каплям добавляли 0.5 см<sup>3</sup> (5.3 ммоль) BBr<sub>3</sub> в 30 см<sup>3</sup> CH<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>. По окончании перемешивания смесь доводили до комнатной температуры и перемешивали в течение 4 ч. Затем в реакционную смесь по каплям добавляли 20 мл дистиллированной воды. Водный слой отделяли, нейтрализовали раствором аммиака до pH 7 и экстрагировали этилацетатом. Экстракт высушивали над безводным сульфа-



том магния, упаривали. Продукт получили в виде желтых кристаллов. Выход 0.10 г (83%). Т. пл. 189-190 °С. Спектральные данные совпадают с данными, приведенными в литературе [158].

# Получение 1,2-диметил-5-метоксипиридиний иодида (11а)

В виале для микроволнового реактора растворяли 0.28 г (12.2 ммоль) натрия в 4 см<sup>3</sup>абсолютного метанола, добавляли 0.98 г (9 ммоль) 6метилпиридинола-3 и нагревали 90 минут при 100 °C. Смесь охлаждали до комнатной температуры и добавляли 1.4 см<sup>3</sup> (22.5 моль) иодистого метила, нагревали 120 минут при 100 °C. Растворитель отгоняли и остаток перекристаллизовывали из этанола.



1,2-диметил-5-метоксипиридиний иодид (11а). Кристаллы кремового цвета. Выход 1.76 г (74%). Т. пл. 130-133 сталлы кремового цвета. Выход 1.76 Г (74%). 1. пл. 130–133  ${}^{6} \bigcirc {}^{N}_{CH}$  °C. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц,  $\delta$ , м.д.):  $\delta$  2.67 (3H, c, CH<sub>3</sub>), 3.95 (3H, c, OCH<sub>3</sub>), 4.19 (3H, c, NCH<sub>3</sub>), 7.92 (1H, д, J =

8.7 Гц, Н-3), 8.13 (1Н, дд, Ј = 8.7, 2.7 Гц, Н-4), 8.80 (1Н, д, Ј = 2.7 Гц, Н-6). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): δ 18.7 (CH<sub>3</sub>, CH<sub>3</sub>), 45.7 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 57.2 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 129.3, 130.9, 133.0, 147.9, 155.9. Macc-cnektp (ESI) m/z: вычислено для  $[C_8H_{12}NO^+] = 138.09$  (100.0%), 139.09 (8.7%) найдено 138.20 (100.0%), 139.20 (9.7%).

# Получение 6-метил-3-метокси-2-этилпиридина (106)

К перемешиваемой суспензии 3.00 г (21.9 ммоль) 2-этил-6метилпиридинола-3 в 7 см<sup>3</sup> этанола, охлажденной до 0 <sup>0</sup>С, прибавляли по каплям охлажденный раствор диазометана, полученного из 18.00 г нитрозометилмочевины, в диэтиловом эфире (прибавление диазометана осуществлялось порциями в течение 3 дней). После каждого добавления диазометана прибавляли несколько капель концентрированной соляной кислоты, смесь перемешивали 1 ч при 0 °C, а затем – при комнатной температуре. После прибавления всего диазометана растворитель отгоняли, остаток разбавляли водой и экстрагировали метил-*трет*-бутиловым эфиром. Экстракт сушили

над безводным сульфатом магния, затем растворитель отгоняли. Остаток перегоняли в вакууме.

**6-метил-3-метокси-2-этилпиридин (106)**. Бесцветное масло. Выход  $H_3CO + 4 = 2.50 \ \Gamma (76\%)$ . Т. кип. 75-80 °C/10-12 мм. рт. ст. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H (CDCl<sub>3</sub>, 400 МГц,  $\delta$ , м.д.):  $\delta$  1.19 (3H, т,  $J = 7.6 \ \Gamma$ ц, CH<sub>3</sub>); 2.44 (3H, c, CH<sub>3</sub>), 2.79 (2H, кв,  $J = 7.6 \ \Gamma$ ц, CH<sub>2</sub>), 3.76 (3H, c, OCH<sub>3</sub>), 6.89 (1H, д,  $J = 8.3 \ \Gamma$ ц, H-5), 6.97 (1H, д,  $J = 8.3 \ \Gamma$ ц, H-3). Спектр ЯМР <sup>13</sup>C (CDCl<sub>3</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.):  $\delta$  13.0 (CH<sub>3</sub>), 23.2 (CH<sub>2</sub>), 26.0 (CH<sub>3</sub>), 55.3 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 117.5, 120.8, 148.4, 151.2, 152.5. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>9</sub>H<sub>13</sub>NO+H<sup>+</sup>] = 152.11 (100.0%), 153.11 (9.7%) найдено 152.13 (100.0%), 153.13 (8.7%)

### Получение 1,6-диметил-3-метокси-2-этилпиридиний иодида (11б)

В виале для микроволнового реактора растворяли 1.00 г (6.6 ммоль) соединения (**106**) в 3 см<sup>3</sup> хлороформа и добавляли 0.92 см<sup>3</sup> (14.7 ммоль) иодистого метила. Смесь нагревали 2 ч при 90°С, затем растворитель отгоняли. Остаток промывали этилацетатом и отфильтровывали.

**1,6-Диметил-2-этил-3-метоксипиридиний** иодид  $H_3CO + (J_1)^3 + (J_1)^2 + (J_1)^3 + (J_1)^3$ 

### Конденсация соли (11а) с ароматическими альдегидами

Смесь 0.700 г (2.64 ммоль) соли (**11a**), 2.64 ммоль соответствующего альдегида и 0.27 см<sup>3</sup> пиперидина в 10 см<sup>3</sup> бутанола-1 кипятили в течение 5-10 ч. Затем реакционную массу охлаждали и отфильтровывали осадок, промывали диэтиловым эфиром (ацетоном в случае соединения (**12a**)).

(E)-1-метил-5-метокси-2-стирилпиридиний иодид (12а). Серые кри-  $H_{3}CO \int_{0}^{4} H^{b}$  сталлы. Выход 0.490 г (53%). Т. пл. 213–215°С (с  $P_{1}CH_{3}H^{a}$  сталлы. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц,  $\delta$ , м.д.):  $O CH_{3}$   $H^{a}$  сталлы. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц,  $\delta$ , м.д.):  $\delta$  4.01 (3H, c, OCH<sub>3</sub>), 4.38 (3H, c, NCH<sub>3</sub>), 7.42–7.50 (3H, м, H-3', H-4', H-5'), 7.52 (1H, д, J = 16.0 Гц, H-a),

7.77–7.84 (3H, m, H-2', H-6', H-b), 8.20 (1H, дд, J = 9.6, 2.7 Гц, H-4), 8.45 (1H, д, J = 9.6 Гц, H-3), 8.79 (1H, д, J = 2.7 Гц, H-6). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): δ 46.2 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 57.4 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 117.1, 125.7, 128.1, 128.9, 130.1, 130.6, 132.8, 135.0, 140.5, 145.2, 156.0. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>15</sub>H<sub>16</sub>NO<sup>+</sup>] = 226.12 (100.0%), 227.13 (16.2%) найдено 226.07 (100.0%), 227.08 (17.0%).

### (Е)-1-метил-5-метокси-2-(4-метоксистирил)пиридиний иодид (12б).



Желтые кристаллы. Выход 0.850 г (84%). Т.пл. 215–218°С (с разл.). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): δ 3.82 (3H, с, ОСН<sub>3</sub>), 3.98 (3H, с, ОСН<sub>3</sub>), 4.34 (3H, с, NCH<sub>3</sub>), 7.04 (2H, д, J = 8.7

Гц, H-3', H-5'), 7.36 (1H, д, J = 16.0 Гц, H-a), 7.73–7.86 (3H, м, H-2', H-6', H-b), 8.15 (1H, дд, J = 9.2, 2.7 Гц, H-4), 8.40 (1H, д, J = 9.2 Гц, H-3), 8.71 (1H, д, J = 2.7 Гц, H-6). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.): 46.1 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 55.4 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 57.3 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 114.5, 114.5, 125.2, 127.8, 130.0, 130.7, 132.2, 140.5, 145.9, 155.6, 161.0. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>16</sub>H<sub>18</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup>] = 256.13 (100.0%), 257.14 (17.3%) найдено 256.09 (100.0%), 257.12 (17.3%).

# (Е)-2-(3,4-диметоксистирил)-1-метил-5-метоксипиридиний иодид



(12в). Желтые кристаллы. Выход 0.870 г (80%).
Т. пл. 206–208°С (с разл.). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): δ 3.82 (3H, с, ОСН<sub>3</sub>), 3.85 (3H, с, ОСН<sub>3</sub>), 3.99 (3H, с, ОСН<sub>3</sub>),

4.36 (3H, c, NCH<sub>3</sub>), 7.05 (1H, д, J = 8.2 Гц, H-2'), 7.34–7.44 (3H, м, H-5', H-6', H-a), 7.74 (1H, д, J = 16.0 Гц, H-b), 8.16 (1H, дд, J = 9.2, 2.7 Гц, H-4), 8.39 (1H, д, J = 9.2 Гц, H-3), 8.72 (1H, d, J = 2.7 Гц, H-6). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): δ 46.2 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 55.6 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 55.8 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 57.3 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 110.6, 111.7, 114.5, 122.9, 125.2, 127.9, 130.7, 132.2, 140.9, 145.8, 149.0, 151.0, 155.5. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup>] = 286.14 (100.0%), 287.15 (18.4%) найдено 286.12 (100.0%), 287.12 (17.2%).

(Е)-2-(3,5-диметоксистирил)-1-метил-5-метоксипиридиний иодид



(12г). Желтые кристаллы. Выход 0.830 г (76%). T. пл. 215–218°С (с разл.). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц,  $\delta$ , м.д.):  $\delta$  3.81 (6H, c, 2 ОСН<sub>3</sub>), 4.00 (3H, c, OCH<sub>3</sub>), 4.37 (3H, c, NCH<sub>3</sub>),

6.59 (1Н, т, J = 2.1 Гц, H-4′), 6.97 (2Н, д, J = 2.3 Гц, H-2′, H-6′), 7.51 (1Н, д, J = 16.0 Гц, H-а), 7.70 (1Н, д, J = 16.0 Гц, H-b), 8.20 (1Н, дд, J = 9.2, 2.7 Гц, H-4), 8.40 (1Н, д, J = 9.2 Гц, H-3), 8.77 (1Н, д, J = 2.7 Гц, H-6). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): δ 46.3 (СН<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 55.4 (СН<sub>3</sub>, 20СН<sub>3</sub>), 57.4 (СН<sub>3</sub>, 0СН<sub>3</sub>), 102.1, 106.2, 117.6, 125.7, 130.6, 132.9, 136.9, 140.6, 145.2, 156.1, 160.7. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup>] = 286.14 (100.0%), 287.15 (18.4%) найдено 286.12 (100.0%), 287.12 (18.7%).

### (Е)-1-метил-5-метокси-2-(3,4,5-триметоксистирил)пиридиний иодид



(12д). Желтые кристаллы. Выход 0.815 г (70%).
T. пл. 201–203°С (с разл.). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н
(ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): δ 3.72 (3H, с, ОСН<sub>3</sub>), 3.86 (6H, с, 2ОСН<sub>3</sub>), 4.00 (3H, с, ОСН<sub>3</sub>),

4.38 (3H, с, NCH<sub>3</sub>), 7.13 (2H, с, H-2', H-6'), 7.45 (1H, д, J = 16.0 Гц, H-а), 7.73
(1H, д, J = 16 Гц, H-b), 8.20 (1H, дд, J = 9.2, 2.7 Гц, H-4), 8.38 (1H, д, J = 9.2 Гц, H-3), 8.75 (1H, д, J = 2.7 Гц, H-6). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.):  $\delta$  46.3 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 56.2 (2 CH<sub>3</sub>, 2OCH<sub>3</sub>), 57.2 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 61.9 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 106.0, 116.2, 125.4, 130.6, 130.8, 132.6, 139.6, 140.9, 145.5, 153.1, 155.9. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>] = 316.15 (100.0%), 317.16 (19.5%) найдено 316.12 (100.0%), 317.13 (19.7%).

#### Конденсация соли (11б) с ароматическими альдегидами

0.400 г (1.37 ммоль) соли (**116**), 1.37 ммоль соответствующего альдегида и 0.135 см<sup>3</sup> пиперидина в смеси 5 см<sup>3</sup> толуола и 1 см<sup>3</sup> бутанола-1 кипятили 2 ч. Смесь охлаждали, осадок отфильтровывали и промывали диэтиловым эфиром.

(Е)-1-метил-3-метокси-6-стирил-2-этилпиридиний иодид (15а).

$$H_{3}CO_{5}$$
 (67%). Т.  
 $H_{3}CO_{5}$  (67%). Т.  
 $H_{3}CO_{6_{1}}$  ( $H_{2}$  ( $H_{3}$  ( $H_{4}$  ) $H_{2}$  ) $H_{4}$  ( $H_{2}$  ) $H_{4}$  ( $H_{2}$  ) $H_{4}$  ) $H_{4}$  ) $H_{4}$  ( $H_{2}$  ) $H_{4}$  ) $H_{$ 

NCH<sub>3</sub>), 7.40-7.50 (3H, м, H-3', H-4', H-5'), 7.59 (2H, с, H-a, H-b), 7.80 (2H, дд, *J*=8.0 Гц, 1.2 Гц, H-2', H-6'), 8.20 (1H, д, *J*=9.2 Гц, H-4), 8.27 (1H, d, *J*=9.2 Гц, H-3); Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 10.8 (CH<sub>3</sub>), 20.5(CH<sub>2</sub>), 41.3 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 57.7 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 118.9, 124.1, 125.8, 127.9, 128.8, 129.7, 135.2, 139,6, 145.2, 149.8, 154.2. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>17</sub>H<sub>20</sub>NO<sup>+</sup>] = 254.15 (100.0%), 255.16 (18.4%) найдено 254.08 (100.0%), 255.09 (18.3%)

(Е)-1-метил-3-метокси-6-(4-метоксистирил)-2-этилпиридиний ио-

 $\begin{array}{c} H_{3}CO \underbrace{5}_{4} \\ H_{3}CO \underbrace{5}_{6} \\ H_{3} \\ H_{2} \\ H_{3} \\ H$ 

**дид** (156). Желтые кристаллы. Выход 0.430 г (77%). Т. пл. 211-213°С (с разл). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 1.19 (3H, т, *J*=7.3 Гц, СН<sub>3</sub>), 3.12 (2H, кв, *J*=7.3 Гц, CH<sub>2</sub>), 3.81 (3H, с, OCH<sub>3</sub>), 4.04 (3H, с, OCH<sub>3</sub>), 4.24 (3H, с, NCH<sub>3</sub>), 7.02 (2H, д, *J*=8.7 Гц, H-3', H-5'), 7.41 (1H, д, *J*=16.0 Гц, Ha), 7.55 (1H, д, *J*=16.0 Гц, H-b), 7.76 (2H, д, *J*=8.7 Гц, H-2', H-6'), 8.18 (1H, д, *J*=9.6 Гц, H-4), 8.24 (1H, д, *J*=9.6 Гц, H-3). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 10.8 (CH<sub>3</sub>), 20.4 (CH<sub>2</sub>), 41.1 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 55.3 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 57.6 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 114.2, 116.2, 123.6, 125.8, 127.8, 129.7, 139.5, 145.6, 149.4, 153.8, 160.6. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>18</sub>H<sub>22</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup>] = 284.16 (100.0%), 285.17 (19.5%) найдено 284.12 (100.0%), 285.15 (19.7%)

#### (Е)-6-(3,4-диметоксистирил)-1-метил-3-метокси-2-этилпиридиний



иодид (15в). Желтые кристаллы. Выход 0.430 г (72%). Т. пл. 197-198°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСОd<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 1.19 (3H, т, *J*=7.3 Гц, CH<sub>3</sub>), 3.12 (2H, кв, *J*=7.3 Гц, CH<sub>2</sub>), 3.81 (3H, с, OCH<sub>3</sub>),

3.85 (3H, c, OCH<sub>3</sub>), 4.04 (3H, c, OCH<sub>3</sub>), 4.27 (3H, c, NCH<sub>3</sub>), 7.02 (1H, д, *J*=8.1 Гц, H-6'), 7.32 (1H, д, *J*=8.1 Гц, H-5'), 7.44 (1H, c, H-2'), 7.45 (1H, д, *J*=16.0 Гц, H-a), 7.54 (1H, д, *J*=16.0 Гц, H-b), 8.17 (1H, д, *J*=9.2 Гц, H-4), 8.23 (1H, д, *J*=9.2 Гц, H-3). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 10.8 (CH<sub>3</sub>), 20.4 (CH<sub>2</sub>), 41.2 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 55.6 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 55.8 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 57.6 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 110.4, 111.7, 116.3, 122.5, 123.6, 125.8, 128.1, 139.9, 145.7, 148.9, 149.3, 150.5, 153.7. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup>] = 314.18 (100.0%), 315.18 (20.5%) найдено 314.16 (100.0%), 315.15 (20.3%)

#### (Е)-6-(3,5-диметоксистирил)-1-метил-3-метокси-2-этилпиридиний



иодид (15г). Светло-желтые кристаллы. Выход 0.240 г (40 %). Т. пл. 185-186°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 1.20 (3H, т, *J*=7.6 Гц, CH<sub>3</sub>), 3.14 (2H, кв, *J*=7.3 Гц, CH<sub>2</sub>), 3.81 (6H, с,

20СН<sub>3</sub>), 4.05 (3H, c, OCH<sub>3</sub>), 4.26 (3H, c, NCH<sub>3</sub>), 6.55 (1H, т, *J*=2.1 Гц, H-4'), 6.97 (2H, д, *J*=2.1 Гц, H-2', H-6'), 7.49 (1H, д, *J*=16.0 Гц, H-a), 7.58 (1H, д, *J*=16.0 Гц, H-b), 8.19 (1H, д, *J*=9.3 Гц, H-4), 8.23 (1H, д, *J*=9.3 Гц, H-3). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 10.8 (CH<sub>3</sub>), 20.5 (CH<sub>2</sub>), 41.3 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 55.4 (CH<sub>3</sub>, 2OCH<sub>3</sub>), 57.7 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 101.8, 106.1, 119.5, 124.1, 125.8, 137.1, 139.7, 145.1, 150.0, 154.3, 160.7. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>19</sub>H<sub>24</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup>] = 314.18 (100.0%), 315.18 (20.5%) найдено 314.16 (100.0%), 315.16 (20.7%)

(E)-1-метил-3-метокси-6-(3,4,5-триметоксистирил)-2-этилпиридиний иодид  $H_{3}CO \xrightarrow{4}_{G_{1}} \xrightarrow{4}_{U_{2}} \xrightarrow{4}_{U_{2}} \xrightarrow{6'}_{U_{2}} \xrightarrow{0}_{CH_{3}} \xrightarrow{1}_{U_{2}} \xrightarrow{6'}_{U_{2}} \xrightarrow{0}_{CH_{3}} \xrightarrow{1}_{U_{2}} \xrightarrow{0}_{U_{2}} \xrightarrow{0}_{U_{$ 

(6H, c, 2ОСН<sub>3</sub>), 4.05 (3H, c, ОСН<sub>3</sub>), 4.28 (3H, c, NCH<sub>3</sub>), 7.14 (2H, c, H-2', H-6'), 7.53 (2H, c, H-a, H-b), 8.21 (2H, c, H-4, H-3). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.): 10.8 (CH<sub>3</sub>), 20.5 (CH<sub>2</sub>), 41.4 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 56.2 (2CH<sub>3</sub>, 2OCH<sub>3</sub>), 57.7 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 60.1 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 105.8, 118.1, 123.9, 125.9, 130.8, 139.2, 139,9, 145.4, 149.7, 153.0, 154.1. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>20</sub>H<sub>26</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>] = 344.19 (100.0%), 345.19 (21.6%) найдено 344.17 (100.0%), 345.18 (21.4%)

#### Получение стильбазолов (1а-д, 2а-д)

0.78 ммоль солей (**12а-д**), (**13а-д**) и пиридиний хлорид (из расчета 0.67 г, 5.77 ммоль на каждую CH<sub>3</sub>группу) нагревали при перемешивании в круглодонной колбе с обратным холодильником 3 ч (в течение 1.5 ч нагревали до 200-210 <sup>о</sup>C и 1.5 ч – при этой температуре). Реакционную смесь выливали на лед, добавляли концентрированный раствор аммиака до рН 7 и экстрагировали этилацетатом. Экстракт сушили над безводным сульфатом магния, затем растворитель отгоняли. Остаток промывали хлористым метиленом и очищали колоночной хроматографией (элюент хлористый метилен-метанол).

(*E*)-6-Стирилпиридин-3-ол (1а). Кремовые кристаллы. Выход 0.080 г (52%). Т. пл. 174–175 °С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): δ 7.15 (1Н, дд, J = 8.7, 2.7 Гц, Н-4), 7.19 (1Н, д, J = 16.5 Гц, Н-а), 7.25 (1Н, т, J = 7.22



Гц, Н-4'), 7.34–7.42 (4Н, м, Н-3', Н-5', Н-3, Н-b), 7.58
(2Н, д, J = 7.3 Гц, Н-2', Н-6'), 8.14 (1Н, д, J = 2.7 Гц, Н-6), 9.95 (1Н, с, ОН). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): δ 122.4, 122.9, 126.5, 127.5, 127.9, 128.6,

128.7, 136.8, 137.9, 146.3, 152.8. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO+H<sup>+</sup>] = 198.09 (100.0%), 199.10 (14.2%), найдено 198.15 (100.0%), 199.15 (14.4%); вычислено для [C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO-H<sup>+</sup>] = 196.08 (100.0%), 197.08 (14.2%) найдено 196.07 (100.0%), 197.07 (14.2%).

(E)-6-(4-гидроксистирил)пиридинол-3 (16). Желтые кристаллы. Выход 0.105 г (63%). Т. пл. 210–211°С (с разл.). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц,  $\delta$ , м.д.): 6.76 (2H, д, J = 8.3 Гц, H-3', H-5'), 6.95 (1H, д, J = 16.0 Гц, H-a), 7.12 (1H, дд, J = 8.7, 2.7 Гц, H-4), 7.22–7.35 (2H, м, H-3, H-

b), 7.40 (2H, д, J = 8.7 Гц, H-2', H-6'), 8.10 (1H, д, J = 2.7 Гц, H-6), 9.66 (1H, уш.с, OH-Ph), 9.92 (1H, уш.с, OH-Py). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.):  $\delta$  115.5, 122.2, 122.5, 124.7, 127.9, 127.9, 128.8, 137.7, 146.9, 152.3, 157.3. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>] = 214.09 (100.0%), 215.09 (14.1%), найдено 214.14 (100.0%), 215.14 (14.7%); вычислено для [C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>2</sub>-H<sup>+</sup>] = 212.07 (100.0%), 217.08 (14.1%) найдено 212.08 (100.0%), 213.07 (13.8%).

(Е)-5-(2-(5-гидроксипиридинил-2)винил)бензодиол-1,2 (1в). Желтые



кристаллы. Выход 0.094 г (53%). Т. пл. 174–175°С (с разл.). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): δ 6.72 (1H, д, J = 7.8 Гц, H-5'), 6.79–6.91 (2H, м, H-6', H-a), 6.97 (1H, д, J = 1.8 Гц, H-2'), 7.12 (1H, дд, J =

8.2, 2.7 Гц, H-4), 7.22 (1Н, д, J = 16.0 Гц, H-b), 7.34 (1Н, д, J = 8.2 Гц, H-3),
8.10 (1Н, д, J = 2.7 Гц, H-6), 8.92 (1Н, уш.с, OH–Ph), 9.01 (1Н, уш.с, OH–Ph),
9.92 (1Н, уш.с, OH–Py). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): δ
113.3, 115.7, 118.8, 122.2, 122.6, 124.5, 128.4, 129.4, 137.4, 145.4, 145.7, 146.8,
152.3. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>] = 230.08

(100.0%), 231.09 (14.1%) найдено 230.08 (100.0%), 231.10 (14.2 %); вычислено для [C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>-H<sup>+</sup>] = 228.07 (100.0%), 229.07 (14.1%) найдено 228.06 (100.0%), 229.08 (14.0%).

(E)-5-(2-(5-гидроксипиридинил-2)винил)бензодиол-1,3 (1г). Кремовые кристаллы. Выход 0.090 г (50%). Т. пл. 215– 216°С (с разл.). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц,  $\delta$ , м.д.):  $\delta$  6.15 (1H, т, J = 2.1 Гц, H-4'), 6.41 (2H, д, J = 1.8 Гц, H-2', H-6'), 6.97 (1H, д, J = 16.0 Гц,

H-a), 7.12 (1H, дд, J = 8.2, 2.7 Гц, H-4), 7.19 (1H, д, J = 16.0 Гц, H-b), 7.38 (1H, д, J = 8.2 Гц, H-3), 8.11 (1H, д, J = 2.7 Гц, H-6), 9.19 (2H, уш.с, 2OH-Ph), 9.93 (1H, уш.с, OH-Py). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.):  $\delta$  102.4, 104.7, 122.5, 122.7, 127.3, 129.3, 137.7, 138.5, 146.3, 152.7, 158.5. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>] = 230.08 (100.0%), 231.09 (14.1%) найдено 230.07 (100.0%), 231.09 (14.7 %); вычислено для [C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>-H<sup>+</sup>] = 228.07 (100.0%), 229.07 (14.1%) найдено 228.06 (100.0%), 229.07 (15.0%).

(E)-5-(2-(5-гидроксипиридинил-2)винил)бензотриол-1,2,3 (1д). <sup>4</sup> Оранжевые кристаллы. Выход 0.100 г (52%). Т. пл.

DH 130–133°C (с разл.). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): δ 6.50 (2H, с, H-2', H-6'), 6.79 (1H, д, J = 16.0 Гц, H-a), 6.95–7.14 (2H, м, H-4, H-b), 7.33 (1H,

д, J = 8.2 Гц, H-3), 8.08 (1H, д, J = 2.7 Гц, H-6), 8.81 (3H, уш.с, 3OH-Ph), 9.70 (1H, уш.с, OH-Py). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.):  $\delta$  105.7, 122.1, 122.4, 124.7, 127.4, 129.5, 133.5, 137.5, 146.1, 151.3, 152.3. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>+H<sup>+</sup>] = 246.08 (100.0%), 247.08 (14.1%) найдено 246.08 (100.0%), 247.10 (15.5%); вычислено для [C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>4</sub>-H<sup>+</sup>] = 244.06 (100.0%), 245.06 (14.1%) найдено 244.06 (100.0%), 245.06 (14.0%).



149



 $\mathsf{H}^\mathsf{b}$ 

HO

1.21 (3H, т, *J*=7.6 Гц, CH<sub>3</sub>), 2.74 (2H, кв, *J*=7.6 Гц, CH<sub>2</sub>), 7.07-7.27 (4H, м, H-3, H-4, H-a, H-4'), 7.32-7.41 (3H, м, H-3', H-5', H-b), 7.57 (2H, д, *J*=7.3 Гц, H-2', H-6'), 9.79 (1H, c, OH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 12.2 (CH<sub>3</sub>), 25.2 (CH<sub>2</sub>), 120.7, 121.4, 126.4, 127.3, 128.1, 128.4, 128.6, 136.9, 145.1, 150.1, 150.4. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO+H<sup>+</sup>] = 226.12 (100.0%), 227.13 (16.2%), найдено 226.11 (100.0%), 225.11 (16.2%); вычислено для [C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO–H<sup>+</sup>] = 224.11 (100.0%), 225.11 (16.2%) найдено 224.07 (100.0%), 225.07 (16.1%).

(Е)-6-(4-гидроксистирил)-2-этилпиридин-3-ол (26). Желтые кристал-



лы. Выход 0.094 г (50%). Т. пл. 213-214°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 1.21 (3Н, т, *J*=7.3 Гц, CH<sub>3</sub>), 2.74 (2Н, кв, *J*=7.6 Гц, CH<sub>2</sub>), 6.77 (2Н, д, *J*=8.7 Гц, H-3', H-5'), 6.93 (1Н, д, *J*=16.0 Гц, H-b),

7.07 (1H, д, *J*=8.2 Гц, H-3), 7.15 (1H, д, *J*=8.7 Гц, H-4), 7.28 (1H, д, *J*=16.0 Гц, H-a), 7.40 (2H, д, *J*=8.7 Гц, H-2, H-6), 9.60 (2H, уш.с, OH-Ph, OH-Py). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 12.3 (CH<sub>3</sub>), 25.2 (CH<sub>2</sub>), 115.5, 119.9, 121.6, 125.2, 127.8, 128.1, 128.3, 145.8, 149.6, 150.2, 157.2. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>] = 242.12 (100.0%), 243.12 (16.2%), найдено 242.14 (100.0%), 242.14 (16.7%); вычислено для [C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>2</sub>-H<sup>+</sup>] = 240.10 (100.0%), 241.11 (16.2%) найдено 240.08 (100.0%), 241.07 (16.3%).

(Е)-5-(2-(5-гидрокси-6-этилпиридинил-2)винил)бензодиол-1,2 (2в).



Желтые кристаллы. Выход 0.100 г (50%). Т. пл. 141-143°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 1.20 (3H, т, *J*=7.6 Гц, CH<sub>3</sub>), 2.72 (2H, кв, *J*=7.6 Гц, CH<sub>2</sub>), 6.72 (1H, д, *J*=8.3 Гц, H-4'), 6.81-6.85 (2H,

м, H-6', H-b), 6.97 (1H, д, *J*=2.3 Гц, H-2'), 7.06 (1H, д, *J*=8.2 Гц, H-3), 7.15 (1H, д, *J*=8.3 Гц, H-4), 7.20 (1H, д, *J*=16.0 Гц, H-a), 9.34 (3H, уш.с, 2OH-Ph, OH-Py). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 12.3 (CH<sub>3</sub>), 25.2 (CH<sub>2</sub>), 113.2, 115.7, 118.6, 120.0, 121.6, 125.1, 128.6, 128.7, 145.4, 145.5, 145.8, 149.6, 150.2. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>] = 258.11 (100.0%),

259.12 (16.2%) найдено 258.08 (100.0%), 259.10 (16.5 %); вычислено для [C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>-H<sup>+</sup>] = 256.10 (100.0%), 257.10 (16.2%) найдено 256.08 (100.0%), 256.09 (16.3%).

#### (Е)-5-(2-(5-гидрокси-6-этилпиридинил-2)винил)бензодиол-1,3 (2г).



Кремовые кристаллы. Выход 0.094 г (47%). Т. пл. 157-159°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 1.20 (3H, т, *J*=7.6 Гц, CH<sub>3</sub>), 2.72 (2H, кв, *J*=7.6 Гц, CH<sub>2</sub>), 6.14 (1H, т, *J*=2.0 Гц, H-4'), 6.41 (2H, д,

J=2.0 Гц, H-2', H-6'), 6.92 (1H, д, J=16.1 Гц, H-b), 7.07 (1H, д, J=8.3 Гц, H-3), 7.16 (1H, д, J=16.1 Гц, H-a), 7.21 (1H, д, J=7.8 Гц, H-4), 9.18 (2H, уш.с, 2OH-Ph), 9.76 (1H, уш.с, OH-Py). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.): 12.2 (CH<sub>3</sub>), 25.1 (CH<sub>2</sub>), 102.2, 104.6, 120.6, 121.5, 127.8, 128.8, 138.6, 145.1, 150.0, 150.3, 158.5. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>] = 258.11 (100.0%), 259.12 (16.2%) найдено 258.10 (100.0%), 259.11 (16.5 %); вычислено для [C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>3</sub>-H<sup>+</sup>] = 256.10 (100.0%), 257.10 (16.2%) найдено 256.09 (100.0%), 256.10 (16.1%).

#### (Е)-5-(2-(5-гидрокси-6-этилпиридинил-2)винил)бензотриол-1,2,3



(2д). Оранжевые кристаллы. Выход 0.085 г (40%). Т. пл. 168-170°С (с разл.). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 1.19 (3Н, т, *J*=7.6 Гц, CH<sub>3</sub>), 2.71 (2Н, кв, *J*=7.6 Гц, CH<sub>2</sub>), 6.49 (2Н, с, H-2', H-6'), 6.55

(1H, д, J=16.1 Гц, H-b), 7.05 (1H, д, J=8.3 Гц, H-3), 7.09 (1H, д, J=16.1 Гц, Ha), 7.15 (1H, д, J=8.3 Гц, H-4), 8.22 (1H, уш.с, OH-Ph), 8.81 (2H, уш.с, 2OH-Ph), 9.64 (1H, уш.с, OH-Py). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.): 12.2 (CH<sub>3</sub>), 25.1 (CH<sub>2</sub>), 105.6, 119.9, 121.5, 125.2, 127.6, 129.0, 133.4, 145.7, 146.1, 149.6, 150.1. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>+H<sup>+</sup>] = 274.11 (100.0%), 275.11 (16.2%) найдено 274.09 (100.0%), 275.10 (16.5%); вычислено для [C<sub>15</sub>H<sub>15</sub>NO<sub>4</sub>-H<sup>+</sup>] = 272.09 (100.0%), 273.10 (16.2%) найдено 272.09 (100.0%), 273.09 (16.3%).

#### Получение солей (14а-д)

К суспензии 0.5 ммоль солей (**12а-**д) в 50 см<sup>3</sup> абсолютного хлористого метилена, охлажденной до -17  $^{0}$ С, в атмосфере аргона при перемешивании добавляли раствор BBr<sub>3</sub> из расчета 8.6 ммоль на каждую группу CH<sub>3</sub> в 25 см<sup>3</sup> абсолютного хлористого метилена в течение 10 минут. Смесь выдерживали 2 ч при этом температуре, затем убирали баню и перемешивали еще 2 ч, оставляли на ночь. К охлажденной смеси добавляли 10 см<sup>3</sup> абсолютного этанола, перемешивали при комнатной температуре 2 ч и отфильтровывали осадок, промывали абсолютным хлористым метиленом.

(E)-5-гидрокси-1-метил-2-стирилпиридиний бромид (14а). Кристаллы бежевого цвета. Выход 0.077 г (53%). Т. пл. 252– 254°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): <sup>6</sup> <sup>6</sup> <sup>1</sup> <sup>1</sup> <sup>1</sup> <sup>6</sup> <sup>5</sup> <sup>5</sup> <sup>4</sup> 4.34 (3H, с, NCH<sub>3</sub>), 7.38-7.49 (3H, м, H-3', H-4', H-5'), 7.52 (1H, д, J=16.12 Гц, H-a), 7.70 (1H, д, J=16.12 Гц, H-

b), 7.80 (2H, д, J=6.84 Гц, H-2', H-6'), 7.95 (1H, дд, J=9.28 Гц, 1.46 Гц, H-4), 8.35 (1H, д, J=8.79 Гц, H-3), 8.50 (1H, д, J=1.95 Гц, H-6), 11.58 (1H, уш.с., OH-Py); Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.): 46.05 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 117.34, 125.88, 127.93, 128.76, 129.82, 131.32, 133.42, 135.11, 139.39, 143.59, 155.03. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>NO<sup>+</sup>] = 212.11 (100.0%), 213.11 (15.1%) найдено 212.10 (100.0%), 213.10 (17.0%). вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>NO<sup>+</sup>– H<sup>+</sup>] = 211.10 (100.0%), 212.10 (15.1%) найдено 211.09 (100.0%), 212.09 (14.0%). РФА: Br/I > 300

#### (Е)-5-гидрокси-1-метил -2-(4-гидроксистирил)пиридиний бромид



(14б). Светло-желтые кристаллы. Выход 0.124 г
(81%). Т. пл. 250–252°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 4.28 (3H, с, NCH<sub>3</sub>), 6.85 (2H, д, *J*=8.70 Гц, H-3', H-5'), 7.26 (1H, д, *J*=15.57 Гц, H-a),

7.58-7.68 (3H, м, H-2', H-6', H-b), 7.90 (1H, дд, *J*=9.16 Гц, 2.75 Гц, H-4), 8.29 (1H, д, *J*=9.16 Гц, H-3), 8.42 (1H, д, *J*=2.29 Гц, H-6), 9.96 (1H, уш.с., Ph-OH),

11.53 (1H, уш.с., Ру-ОН); Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.): 45.95 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 113.59, 115.77, 125.32, 126.34, 129.99, 131.38, 132.80, 139.90, 144.50, 154.29, 159.51. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup>] = 228.10 (100.0%), 229.11 (15.1%) найдено 228.09 (100.0%), 229.09 (15.0%). вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>2</sub><sup>+</sup>–H<sup>+</sup>] = 227.09 (100.0%), 228.10 (15.1%) найдено 227.08 (100.0%), 228.08 (15.0%). РФА: Br/I > 400

#### (Е)-2-(3,4-дигидроксистирил)-5-гидрокси-1-метилпиридиний бро-



мид (14в). Светло-желтые кристаллы. Выход 0.110 г (68%). Т. пл. 271–273°С (с разл.). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 4.27 (3H, с, NCH<sub>3</sub>), 6.82 (1H, д, J=7.78 Гц, H-5'), 7.10 (1H, дд, J=8.24 Гц, 1.83

Гц, H-6'), 7.14 (1H, д, J=15.57 Гц, H-a), 7.19 (1H, д, J=1.83 Гц, H-2'), 7.53 (1H, д, J=16.03 Гц, H-b), 7.89 (1H, дд, J=9.16 Гц, 2.29 Гц, H-4), 8.28 (1H, д, J=9.16 Гц, H-3), 8.42 (1H, д, J=2.29 Гц, H-6), 9.29 (2H, уш.с., Ph-OH), 11.50 (1H, уш.с., Py-OH); Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.): 45.87 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 113.47, 114.99, 115.77, 120.98, 125.36, 126.87, 131.37, 132.73, 140.31, 144.51, 145.54, 148.05, 154.24. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup>] = 244.10 (100.0%), 245.10 (15.1%) найдено 244.08 (100.0%), 244.09 (15.1%) найдено 243.08 (100.0%), 244.08 (14.0%). РФА: Br/I > 400

(Е)-2-(3,5-дигидроксистирил)-5-гидрокси-1-метилпиридиний бро-



**мид (14г)**. Светло-желтые кристаллы. Выход 0.145 г (90%). Т. пл. 270–271°С (с разл.). Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 4.29 (3H, с, NCH<sub>3</sub>), 6.35 (1H, т, *J*=1.83 Гц, H-4'), 6.61 (2H, д, *J*=1.83 Гц, H-2',

H-6'), 7.27 (1H, д, *J*=16.03 Гц, H-a), 7.47 (1H, д, *J*=16.03 Гц, H-b), 7.92 (1H, дд, *J*=9.16 Гц, 2.75 Гц, H-4), 8.31 (1H, д, *J*=9.16 Гц, H-3), 8.48 (1H, д, *J*=2.29 Гц, H-6), 9.35 (2H, уш.с., Ph-OH), 11.63 (1H, уш.с., Ру-OH); Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 45.98 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 104.57, 106.18, 116.83, 125.98, 131.34, 133.32, 136.81, 140.13, 143.82, 154.88, 158.61. Масс-спектр

(ESI) m/z: вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup>] = 244.10 (100.0%), 245.10 (15.1%) найдено 244.08 (100.0%), 245.08 (14.0%). вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>3</sub><sup>+</sup>-H<sup>+</sup>] = 243.09 (100.0%), 244.09 (15.1%) найдено 243.08 (100.0%), 244.08 (14.0%). РФА: Br/I > 300

#### (Е)-5-гидрокси-1-метил-2-(3,4,5-тригидроксистирил)пиридиний



**бромид (14д)**. Светло-желтые кристаллы. Выход <sup>OH</sup> 0.125 г (73%). Т. пл. 248–251°С (с разл.). Спектр <sup>5'</sup> ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 4.26 (3H, с, NCH<sub>3</sub>), 6.74 (2H, с, H-2', H-6'), 7.06 (1H, д, *J*=16.03

Гц, H-a), 7.44 (1H, д, J=16.03 Гц, H-b), 7.88 (1H, дд, J=8.70 Гц, 1.46 Гц, H-4), 8.29 (1H, д, J=9.16 Гц, H-3), 8.41 (1H, д, J=1.46 Гц, H-6), 11.47 (1H, уш.с., Ру-ОН); Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.): 45.81 (CH<sub>3</sub>, NCH<sub>3</sub>), 107.67, 113.52, 125.45, 125.83, 131.38, 132.72, 136.21, 140.72, 144.49, 146.14, 154.25. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>] = 260.09 (100.0%), 261.10 (15.1%) найдено 260.08 (100.0%), 261.09 (15.0%). вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>14</sub>NO<sub>4</sub><sup>+</sup>-H<sup>+</sup>] = 259.08 (100.0%), 260.09 (15.1%) найдено 259.07 (100.0%), 260.08 (15.0%). РФА: Br/I > 400

#### Получение солей (13а-д)

К насыщенным растворам 0.5 ммоль стильбазолов (**1а-**д) в метаноле добавляли по каплям избыток насыщенного хлороводородом диэтилового эфира. Смеси перемешивали 2 ч, выпавшие осадки отфильтровывали и промывали диэтиловым эфиром.

(E)-5-гидрокси-2-стирилпиридиний хлорид (13а). Кремовые кри- HO = 4 G = 1 HO = 4 HO = 1 G = 1 HO = 4 G = 1 HO = 1 = 1HO =

= 9.16, 2.75 Гц, Н-4), 8.16 (1Н, д, Ј = 9.16 Гц, Н-3), 8.27 (1Н, д, Ј = 2.75 Гц, Н-

6), 11.90 (1H, уш.с, OH-Py, H-N<sup>+</sup>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): б 118.94, 124.98, 127.27, 128.20, 129.0, 129.56, 132.20, 135.13, 136.28, 141.37, 155.18.

(Е)-5-гидрокси-2-(4-гидроксистирил)пиридиний хлорид (136). Жел-HO<sub>5</sub> Hb CI Нa ОН

тые кристаллы. Выход 0.117 г (94%). Т. пл. 216-217°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 6.85 (2Н, д, Ј = 8.70 Гц, Н-3', Н-5'), 7.19 (1Н, д, Ј = 16.49 Гц, Н-а), 7.45 (2Н, д, Ј = 8.70 Гц, Н-2', Н-6'),

7.72 (1Н, д, J = 16.49 Гц, Н-b), 7.93 (1Н, дд, J = 9.16, 2.75 Гц, Н-4), 8.12 (1Н, д, J = 9.16 Гц, H-3), 8.19 (1H, д, J = 2.29 Гц, H-6), 9.88 (1H, уш.с, OH-Ph), 11.74 (2H, уш.с, OH–Ру, H-N<sup>+</sup>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, б, м.д.): б 115.08, 116.02, 124.45, 126.12, 127.39, 129.19, 132.60, 136.96, 142.23, 154.56, 159.35.

(Е)-5-гидрокси-2-(3,4-дигидроксистирил)пиридиний хлорид (13в).



Желтые кристаллы. Выход 0.114 г (86%). Т. пл. 187-189°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): δ 6.81 (1Н, д, J = 8.24 Гц, Н-5'), 6.92 (1Н, дд, J = 8.24, 1.83 Гц, Н-6'), 7.07 (1Н, д, Ј = 1.83 Гц, Н-2'), 7.11

(1Н, д, J = 16.03 Гц, Н-а), 7.64 (1Н, д, J = 16.49 Гц, Н-b), 7.93 (1Н, дд, J = 9.16, 2.75 Гц, Н-4), 8.13 (1Н, д, Ј = 9.16 Гц, Н-3), 8.17 (1Н, д, Ј = 2.75 Гц, Н-6), 9.07 (1H, уш.с, OH–Ph, OH–Py), 11.74 (1H, уш.с, H-N<sup>+</sup>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): δ 113.94, 114.77, 116.03, 120.52, 124.39, 126.63, 127.13, 132.70, 137.53, 142.24, 145.74, 147.90, 154.49.

(Е)-5-гидрокси-2-(3,5-дигидроксистирил)пиридиний хлорид (13г). Кремовые кристаллы. Выход 0.078 г (59%). Т. пл. HO 211–213°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, OH 6 м.д.): δ 6.30 (1H, т, J = 2.06 Гц, H-4'), 6.49 (2H, д, J = Н́а CI 1.83 Гц, Н-2', Н-6'), 7.25 (1Н, д, Ј = 16.49 Гц, Н-а), ÒН

7.62 (1Н, д, J = 16.49 Гц, Н-b), 7.95 (1Н, дд, J = 8.93, 2.52 Гц, Н-4), 8.18 (1Н, д, J = 9.16 Гц, H-3), 8.23 (1H, д, J = 2.29 Гц, H-6), 10.14 (2H, уш.с, OH-Ph, OH- Ру), 11.83 (1Н, уш.с, Н-N<sup>+</sup>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): δ 104.37, 105.53, 118.15, 124.85, 127.83, 132.40, 136.70, 137.19, 141.49, 155.06, 158.78.

J = 16.49 Гц, H-b), 7.92 (1H, дд, J = 9.16, 2.75 Гц, H-4), 8.16 (2H, м, H-3, H-6), 9.08 (2H, уш.с, OH-Ph, OH-Py), 11.70 (1H, уш.с, OH-Py, H-N<sup>+</sup>). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): δ 106.94, 114.83, 124.33, 125.59, 127.10, 132.60, 135.88, 137.90, 142.24, 146.27, 154.42.

#### Получение соединений (16)

Смесь 0.80 г (2.73 ммоль) соли (**116**), 2.73 ммоль альдегида (**6а-**д), 0.27 см<sup>3</sup> пиперидина в 8 см<sup>3</sup> бутанола-1 кипятили в течение 4 ч, добавляли 0.81 см<sup>3</sup> пиперидина, кипятили 16 ч, затем упаривали, остаток промывали метил*трет*-бутиловым эфиром. Остаток растворяли в хлористом метилене и пропускали через силикагель, элюируя смесью хлористый метилен-метанол 20:1. Фильтрат упаривали, продукты (**16а,г**) промывали хлористым метиленом.

(E)-3-метокси-6-стирил-2-этилпиридин (16а). Светло-желтые кри-<sup>H<sub>3</sub>CO 5 4 сталлы. Выход 0.065 г (10%). Т. пл. 278–280°С. <sup>C</sup> Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 1.20 <sup>(H<sup>a</sup> 2' 3' 4' (3H, т, J=7.33 Гц, CH<sub>3</sub>), 3.11 (2H, кв, J=7.33 Гц, CH<sub>2</sub>), <sup>(Ha</sup> 4.24 (3H, c, Py-OCH<sub>3</sub>), 7.38-7.52 (4H, м, H-3', H-4', H-</sup></sup>

5', H-b), 7.56 (1H, д, *J*=16.12 Гц, H-a), 7.78 (2H, д, *J*=7.33 Гц, H-2', H-6'), 7.83 (1H, д, *J*=9.28 Гц, H-5), 8.11 (1H, д, *J*=8.79 Гц, H-4); Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО - d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 10.78 (CH<sub>3</sub>), 20.35(CH<sub>2</sub>), 41.11 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 119.25, 124.11, 127.83, 128.78, 128.91, 129.66, 135.21, 138.98, 144.37, 148.08, 153.18.

Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для для[C<sub>16</sub>H<sub>17</sub>NO+H<sup>+</sup>] = 240.14 (100.0%), 241.14 (17.3%), найдено 240.04 (100.0%), 241.04 (16.3%).

(Е)-3-метокси-6-(4-метоксистирил)-2-этилпиридин (16б). Порошок



коричневого цвета. Выход 0.20 г (27%). Т. пл. 150–154°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 1.19 (3H, т, *J*=6.59 Гц, CH<sub>3</sub>), 3.10 (2H, кв, *J*=7.33 Гц, CH<sub>2</sub>), 3.80 (3H, с, OCH<sub>3</sub>), 4.18 (3H, с,

Ру-ОСН<sub>3</sub>), 7.00 (2H, д, *J*=8.79 Гц, H-3', H-5'), 7.34 (1H, д, *J*=16.12 Гц, H-b), 7.35 (1H, д, *J*=16.12 Гц, H-a), 7.58 (1H, д, *J*=8.79 Гц, H-5), 7.70 (2H, д, *J*=8.30 Гц, H-2', H-6'), 7.94 (1H, д, *J*=9.28 Гц, H-4). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 10.93 (CH<sub>3</sub>), 20.23 (CH<sub>2</sub>), 40.70 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-Py), 55.27 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-Ph), 114.25, 117.02, 123.56, 126.54, 128.24, 128.88, 129.23, 136.85, 148.11, 156.68, 160.27. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для[C<sub>17</sub>H<sub>19</sub>NO<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>] = 270.15 (100.0%), 271.15 (18.4%), найдено 270.05 (100.0%), 271.09 (16.4%)

(Е)-6-(3,4-диметоксистирил)-3-метокси-2-этилпиридин (16в). Поро-



шок коричневого цвета. Выход 0.30 г (37%). Т. пл. 157–160°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 1.18 (3H, т, *J*=7.33 Гц, CH<sub>3</sub>), 3.10 (2H, кв, *J*=6.84 Гц, CH<sub>2</sub>), 3.79 (3H, с, OCH<sub>3</sub>), 3.83

(3H, с, ОСН<sub>3</sub>-Ph), 4.17 (3H, с, ОСН<sub>3</sub>-Ру), 6.99 (1H, д, *J*=8.30 Гц, H-5'), 7.20-7.28 (2H, м, H-6', H-b), 7.31-7.40 (2H, м, H-2', H-a), 7.43 (1H, д, *J*=8.79 Гц, H-5), 7.85 (1H, д, *J*=8.79 Гц, H-4). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 11.00 (CH<sub>3</sub>), 22.14 (CH<sub>2</sub>), 43.70 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-Py), 55.58 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-Ph), 55.76 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-Py), 110.15, 111.71, 117.40, 121.64, 123.53, 128.71, 128.88, 136.07, 138.75, 148.38, 148.96, 150.00, 158.83. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>] = 300.16 (100.0%), 301.16 (19.5%), найдено 300.06 (100.0%), 301.06 (18.5%)

(*E*)-6-(3,5-диметоксистирил)-3-метокси-2-этилпиридин (16г). Желтые кристаллы. Выход 0.22 г (27%). Т. пл. 200–201°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 1.17 (3H, т, *J*=7.33 Гц, CH<sub>3</sub>), 3.09 (2H, кв, *J*=7.65



Гц, CH<sub>2</sub>), 3.79 (6H, c, 2OCH<sub>3</sub>-Ph), 4.16 (3H, c, Py-OCH<sub>3</sub>), 6.51 (1H, т, *J*=2.20 Гц, H-4'), 6.88 (2H, д, *J*=1.95 Гц, H-2', H-6'), 7.20 (1H, д, *J*=16.12 Гц, H-b), 7.38 (1H, д, *J*=9.28 Гц, H-5), 7.47 (1H, д,

*J*=16.12 Гц, H-a),7.83 (1H, д, *J*=9.28 Гц, H-4). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 10.96 (CH<sub>3</sub>), 20.14 (CH<sub>2</sub>), 40.58 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-Py), 55.30 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-Ph), 100.93, 105.52, 120.34, 123.85, 128.67, 135.31, 137.30, 137.77, 148.90, 159.56, 160.66. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>18</sub>H<sub>21</sub>NO<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>] = 300.16 (100.0%), 301.16 (19.5%), найдено 300.08 (100.0%), 301.10 (17.5%)

(Е)-6-(3,4,5-диметоксистирил)-3-метокси-2-этилпиридин (16д). По-



рошок коричневого цвета. Выход 0.24 г (27%). Т. пл. 149–153°С. Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 1.18 (3H, т, *J*=7.33 Гц, CH<sub>3</sub>), 3.10 (2H, кв, *J*=7.33 Гц, CH<sub>2</sub>), 3.69 (3H, с, OCH<sub>3</sub>), 3.84

(6H, c, 2ОСН<sub>3</sub>), 4.18 (3H, c, Py-OCH<sub>3</sub>), 7.04 (2H, c, H-2', H-6'), 7.23 (1H, д, *J*=15.63 Гц, H-b), 7.40 (1H, д, *J*=7.82 Гц, H-5), 7.43 (1H, д, *J*=15.63 Гц, Hа),7.83 (1H, д, *J*=9.28 Гц, H-4). 7.38-7.46 (2H, м, H-5, H-а), Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО -d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 10.99 (CH<sub>3</sub>), 20.17 (CH<sub>2</sub>), 43.70 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-Py), 56.10 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-Ph), 60.07 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>-Ph), 105.18, 119.11, 123.70, 128.79, 131.45, 135.70, 137.72, 138.57, 148.76, 153.02, 159.59. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>19</sub>H<sub>23</sub>NO<sub>4</sub>+H<sup>+</sup>] = 330.17 (100.0%), 331.17 (20.5%), найдено 330.13 (100.0%), 331.13 (19.5%)

#### 3.3 Синтез аналогов ресвератрола с имидазольным линкером

#### Получение 4(5)-бром-1Н-имидазола (22)

К раствору 3.78 г (0.055 моль) имидазола в 25 см<sup>3</sup> хлороформа, охлажденному в бане со льдом, при перемешивании по каплям прибавляли раствор 2.1 см<sup>3</sup> (0.375 моль) брома в 5 см<sup>3</sup> хлороформа. После исчезновения окраски брома реакционную смесь упаривали., остаток промывали дважды горячей водой. Осадок отфильтровывали и растворяли в 11 см<sup>3</sup> 1н раствора NaOH. 2,4,5-Трибромимидазол осаждали действием концентрированной HCl.

Смесь 13.6 г (1.8 моль) сульфита натрия и 2.68 г (0.092 моль) 2,4,5трибромимидазола в 62 см<sup>3</sup> воды кипятили 4 ч. После охлаждения реакционную смесь экстрагировали МТБЭ. Экстракт сушили безводным сульфатом магния и упаривали.

Продукт получили в виде бесцветных кристаллов. Выход 0.89 г (43 %). Т. пл. 132–134 °С (лит Т. пл. 131-133 °С [159]).

Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 7.22 (1Н, д, *J*=1.47 Гц, H-5), 7.61 (1Н, д, *J*=0.98 Гц, H-2), 12.37 (с, 1Н, NН). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО-d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 113.21, 115.61, 115.79, 135.71, 135.83.

#### Получение 5-бромпиридинамина-2 (18)

К раствору 12.00 г (0.128 моль) 2-аминопиридина в смеси 40 см<sup>3</sup> ацетонитрила и 60 см<sup>3</sup> хлористого метилена прибавляли по каплям раствор 6.78 см<sup>3</sup> (0.132 моль) брома в 40 см<sup>3</sup> хлористого метилена. После прибавления всего брома реакционную смесь оставляли перемешиваться в течение 2 ч. Выпавший осадок отфильтровывали, растворяли в воде и осаждали добавлением 40 % раствора гидроксида натрия. Продукт отфильтровывали осадок и перекристаллизовывали из бензола.

Продукт получили в виде бесцветных кристаллов. Выход 9.00 г (41%). Т. пл. 132-133 °С. (лит. Т. пл. 132-133 °С [160]). Спектральные характеристики соответствуют литературным данным [161].

#### Получение 5-метоксипиридинамина-2 (19)

В стеклянном реакционном сосуде емкостью 30 см<sup>3</sup> растворяли 0.40 г (17 ммоль) металлического натрия в 10 см<sup>3</sup> абсолютного метанола, затем до-

бавляли 0.42 г (2.9 моль) оксида меди (I), 1.00 г (5.8 ммоль) 5бромпиридинамина-2 и нагревали в микроволновом реакторе 200 мин при температуре 140 °C. Реакционную смесь разбавляли 15 см<sup>3</sup> хлористого метилена и отфильтровывали ее через слой силикагеля. Раствор упаривали, остаток растворяли в 20 см<sup>3</sup> воды и экстрагировали хлористым метиленом. Экстракты сушили над безводным MgSO<sub>4</sub> и упаривали.

Продукт получили в виде коричневого масла. Выход 0.57 г (80 %). Спектральные характеристики соответствуют литературным данным [162].

#### Получение 2-бромпиридинов (20а,б)

Раствор 27.7 ммоль 2-аминопиридина или 2-амино-5-метоксипиридина в 20 см<sup>3</sup> 48 % бромводородной кислоты охлаждали до -15 – -20 °C. К полученной суспензии прибавляли по каплям в течение 10 мин 4 см<sup>3</sup> (77.8 ммоль) охлажденного брома, поддерживая температуру -20 °C. Реакционная смесь становилась более подвижной, её перемешивали еще 90 мин при этой же температуре. Затем к смеси по каплям прибавляли раствор 5.1г (73.9 ммоль) нитрита натрия в 7.5 см<sup>3</sup> воды. После реакционной смеси позволяли нагреться до +15 °C в течение 1 ч и перемешивали дополнительно 45 мин при этой же температуре. Затем реакционную смесь снова охлаждали до -15 °C и прибавляли холодный раствор 20 г (0.5 моль) гидроксида натрия в 50 см<sup>3</sup> воды. Во время его прибавления температура не должна повышаться выше -10 °C. После этого смеси снова позволяли нагреться до комнатной температуры и перемешивали ещё 1 ч. Продукт выделяли экстракцией диэтиловым эфиром. Экстракт сушили над безводным сульфатом магния, упаривали, а остаток очищали перегонкой при пониженном давлении.

**2-Бромпиридин (20а)**. Бесцветная жидкость. Выход 3.5 г (80%). Т. кип. 72-75 °С/ 12 мм. рт. ст (лит. Т. кип. 73-74 °С/ 13 мм. рт. ст [159]).

**2-Бром-5-метоксипиридин (206).** Бесцветная жидкость. Выход 4.16 г (80 %) Т. кип. 82-85 °C/ 1 мм. рт. ст. (лит. Т. кип. 75-78 °C/ 0.6 мм. рт. ст.

[163]). Спектральные характеристики соответствуют литературным данным [163].

#### Получение 2-йод-5-нитропиридина (25)

Смесь 5 г (0.0315 моль) 2-хлор-5-нитропиридина и 23.6 г (0.157 моль) иодида натрия в 100 см<sup>3</sup> ледяной уксусной кислоты кипятили при перемешивании в течении 2 часов, затем смесь вылили на 125 г измельчённого льда. Выпавший осадок отфильтровывали.

**2-Йод-5-нитропиридин (25)**. Порошок желтого цвета. Выход 3.80 г (48 %). Т. пл. 162 – 164 °С (лит. Т. пл. 165-166 °С [164]).

Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 8.15 (1Н, д, *J*=8.30 Гц, Н-3); 8.22 (1Н, дд, *J*=8.30 Гц, 2.93 Гц, Н-4); 9.11 (д, 1Н, *J*=2.93 Гц, Н-6). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО-d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 126.26; 132.63; 135.44; 144.29; 145.63.

#### Получение 2-иод-5-аминопиридина (26)

Смесь 13.00 г (0.052 моль) 2-иод-5-нитропиридина, 33.11 г (0.591 моль) восстановленного железа, 0,7 см<sup>3</sup> соляной кислоты в 50 см<sup>3</sup> этилового спирта и 12 см<sup>3</sup> воды нагревали на водяной бане в течение 1 часа. Смесь фильтровали, остаток в колбе трижды обрабатывали 20 см<sup>3</sup> этилового спирта. Фильтрат упаривали. К остатку добавляли этанол и отфильтровывали через целит, фильтрат упаривали. Продукт получили в виде масла, кристаллизующегося при комнатной температуре.

**2-Иод-5-аминопиридин** (**26**). Твердое вещество коричневого цвета. Выход 10.40 г (91 %). Т. пл. = 56-57 °С (лит. Т. пл. 58.5-60 °С [165]).

Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 5.44 (2H, уш.с, NH<sub>2</sub>); 6.69 (1H, c, H-3); 7.33 (1H, c, H-4); 7.71 (1H, c, H-6). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО-d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 99.05; 122.79; 133.41; 137.22; 144.70.

161

#### Получение 6-иодпиридинола-3 (27)

К смеси 7.66 г (0.0348 моль) 2-иод-5-аминопиридина в 22 см<sup>3</sup> 40 % тетрафтороборной кислоты и 20 см<sup>3</sup> воды, охлажденной до 0 °C в ледяной бане, добавили по каплям раствор 2.65 г (0.0384 моль) нитрита натрия в 20 см<sup>3</sup> воды. Реакционную смесь перемешивали в течении 1 часа при 0 °C. Далее добавили 15 см<sup>3</sup> воды и нагревали смесь на водяной бане в течении 1 часа до растворения. Охлажденную реакционную смесь нейтрализовали добавлением насыщенного раствора гидрокарбоната натрия, осадок отфильтровали.

**6-Иодпиридинол-3** (27). Порошок коричневого цвета. Выход 5.10 г (66%). Т. пл. = 150-151 °C (лит. Т. пл. 149-151 °C [166]).

Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 6.94 (1Н, дд, *J*=8.30 Гц, 2.44 Гц, Н-4); 7.56 (1Н, д, *J*=8.30 Гц, Н-3); 7.94 (1Н, д, *J*=2.44 Гц, Н-6); 10.13 (1Н, уш.с, ОН). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО-d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 104.12; 125.54; 134.58; 139.57; 154.11.

#### Получение 2-иод-5-метоксипиридина (28)

К раствору 3.90 г (17.65 моль) 6-иодпиридинола-3 в 15 см<sup>3</sup> этилового спирта, охлажденному в бане со снегом, при перемешивании прикапывали раствор диазометана, полученного из 9.09 г нитрозометилмочевины, в 100 см<sup>3</sup> диэтилового эфира в течении 1 часа. Затем смесь перемешивали при этой температуре ещё 30 минут, после чего убрали баню и оставляли на ночь. Диэтиловый эфир отгоняли, к остатку добавляли 30 см<sup>3</sup> воды и экстрагировали МТБЭ. Экстракт сушили над безводным сульфатом магния и упаривали. Продукт очищали путем пропускания его раствора в хлористом метилене через силикагель.

**2-Иод-5-метоксипиридин** (**28**). Бесцветные кристаллы. Выход 2.10 г (51 %). Т. пл. = 60-61 °С (лит. Т. пл. 59-60 °С [164]).

162

Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 3.73 (3H, с, ОСН<sub>3</sub>); 7.10 (1Н, дд, Ј=8.79 Гц, 3.42 Гц, Н-4); 7.64 (1Н, д, Ј=8.79 Гц, Н-3); 8.02 (1Н, д, J=2.93 Гц, Н-6). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО-d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 56.66 (СН<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>); 106.52; 125.23; 135.81; 139.47; 156.84.

#### Реакция 2-галогенпиридинов (20) и (28) с 4(5)-бромимидазолом

В стеклянный сосуд емкостью 10 см<sup>3</sup> помещали 0.174 г (1.1 ммоль) 2бромпиридина, 0.147 г (1.0 ммоль) 4-бром-1Н-имидазола, 14.3 мг (0.1 ммоль) оксида меди (I), 23 мг (0.2 ммоль) L-пролина, 0.276 г (2.0 ммоль) карбоната калия и 2.5 см<sup>3</sup> ДМСО и нагревали в микроволновом реакторе 150 мин при температуре 120 °С. Реакционную смесь разбавляли и отфильтровывали осадок. Осадок растворяли в этилацетате и фильтровали через слой силикагеля, фильтрат упаривали.



2-(4-бром-1Н-имидазолил-1)пиридин (23a).Бес-<sup>3</sup> цветное кристалли несто № 4' Вг Т. пл. 80-81°С [165]). Выход 0.170 г (75 %). Спектральные цветное кристаллическое вещество. Т. пл. 111-113 °С (лит.

#### 2-(4-бром-1Н-имидазолил-1)-5-метоксипиридин (23б).



Способ А. Синтез проводили согласно описанной выше методике с использованием 0.207 г (1.1. ммоль) 2-бром-5-метоксипиридина. Выход 0.102 г (40%).

Способ Б. Синтез проводили согласно описанной выше методике с использованием 0.258 г (1.1 ммоль) 2-иод-5-метоксипиридина, 0.69 г (5.0 ммоль) карбоната калия, время реакции составило 240 мин. Выход 0.177 г (70%). Получили продукт в виде бесцветных кристаллов. Т. пл. 134-135 °С.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (CDCl<sub>3</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 3.87 (3H, с, OCH<sub>3</sub>), 7.28 (1H, д, J=8.30 Гц, H-3), 7.33 (1Н, дд, J=8.80 Гц, 2.94 Гц, H-4), 7.52 (1Н, д, J=1.46 Гц, H-5'), 8.10 (1H, д, H-6, J=2.93 Гц), 8.18 (1H, д, J=1.46 Гц, H-2'). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (CDCl<sub>3</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 56.00 (CH<sub>3</sub>, OCH<sub>3</sub>), 112.88, 115.80, 116.38, 123.74, 134.18, 135.73, 141.54, 154.97. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>9</sub>H<sub>8</sub>BrN<sub>3</sub>O+H<sup>+</sup>] = 253.99 (100.0%), 255.99 (97.3%), 255.00 (9.7%), 256.99 (9.5%), найдено 253.96 (100.0%), 255.97 (95.3%), 254.97 (9.0%), 256.98 (8.5%)

## Кросс-сочетание пиридинов (23а,б) и метоксифенилбороновых кислот

В стеклянный сосуд емкостью 30 см<sup>3</sup> помещали 1.00 ммоль 2-(4-бром-1Н-имидазол-1-ил)пиридина или 2-(4-бром-1Н-имидазол-1-ил)-5метоксипиридина, 0.334 г (2.2 ммоль) 4-метоксифенилбороновой кислоты, 2.3 мг (0.01 ммоль) Pd(OAc)<sub>2</sub>, 0.318 г (3 ммоль) Na<sub>2</sub>CO<sub>3</sub>, 10.3 мг (0.04 ммоль) PPh<sub>3</sub> в смеси 6 см<sup>3</sup> этилового спирта и 3 см<sup>3</sup> воды и нагревали в микроволновом реакторе 90 мин при температуре 110 °C. Реакционную смесь экстрагировали этилацетатом, экстракты сушили над безводным MgSO<sub>4</sub>, упаривали. Конечный продукт очищали на хроматографической колонке (элюент петролейный эфир-этилацетат).

### **2-[4-(4-метоксифенил)-***1Н*-имидазолил-1]пиридин (30а). Кристаллическое



вещество розового цвета. Выход 0.175 г (70 %). Т. пл. 115-116 °С.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (CDCl<sub>3</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 3.81 (3H, с, OCH<sub>3</sub>), 6.93 (2H, д, *J*=8.79 Гц, H-3", H-

5″,), 7.22 (1Н, м, H-5), 7.40 (1Н, д, *J*=8.30 Гц, H-6), 7.77 (2Н, д, *J*=8.79 Гц, H-2″, H-6″), 7.80 (1Н, дд, *J*=8.31, 1.96 Гц, Н -4), 7.83 (1Н, с, *J*=1.47 Гц, H-5′), 8.44 (1Н, с, *J*=0.98 Гц, H-2′), 8.46 (1Н, д, *J*=4.88, 1.95 Гц, H-3). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (CDCl<sub>3</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 55.22 (С, ОСН<sub>3</sub>), 110.29, 112.11, 114.01, 121.96, 125.86, 126.30, 134.66, 138.97, 142.66, 148.72, 149.03, 159.01. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>15</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O+H<sup>+</sup>] = 251.11 (100.0%), 252.11 (16.2%), найдено 251.12 (100.0%), 252.12 (16.3%)

# **5-метокси-2-[4-(4-метоксифенил)-***1Н***-имидазолил-1]пиридин** (306). Бесцветные кристаллы. Выход 0.168 г (60 %). Т. пл. 152-154 °C.



Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 3.77 (3H,c, OCH<sub>3</sub>-Ph), 3.87 (3H, c, OCH<sub>3</sub>-Ру), 6.96 (2H, д, *J*=8.79 Гц, H-3'',5''), 7.62 (дд, 1H, *J*=8.79, 2.93 Гц, H-4), 7.75-7.80 (3H, м, H-

3, H-2", H-6"), 8.20 (1H, д, *J*=2.93 Гц, H-6), 8.22 (1H, д, *J*=0.98 Гц, H-5'), 8.48 (1H, д, *J*=0,98 Гц, H-2'). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО-d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 55.02(С, ОСН<sub>3</sub>-Ph), 56.00(С, ОСН<sub>3</sub>-Py), 111.22, 113.31, 113.97, 124.29, 125.83, 126.27, 134.71, 135.31, 141.39, 142.07, 154.32, 158.35. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>16</sub>H<sub>15</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>] = 282.12 (100.0%), 283.13 (17.3%), найдено 282.02 (100.0%), 283.03 (14.3%)

#### 2-(4-(3,4-диметоксифенил)-1Н-имидазолил-1)-5-метоксипиридин



(30в). Синтез проводили по описанной выше методике, но с использованием 0.636 г (6 ммоль)  $Na_2CO_3$  в смеси 6 см<sup>3</sup> этилового спирта и 6 см<sup>3</sup> воды, время реакции составило 3 ч.

Продукт получили в виде кристаллов розового цвета. Выход 0.155 г (50 %). Т. пл. 104-105 °C.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (CDCl<sub>3</sub>, 400 МГц,  $\delta$ , м.д.): 3.85 (3H, c, OCH<sub>3</sub>-Ph), 3.87 (3H, c, OCH<sub>3</sub>-Ph), 3.93 (3H, c, OCH<sub>3</sub>-Py); 6.86 (1H, д, *J*=8.30 Гц, H-5"), 7.29 (2H, д, *J*=1.47 Гц, H-3, H-4), 7.32 (1H, дд, *J*=8.30, 1.95 Гц, H-6"), 7.41 (1H, д, *J*=1.95 Гц, H-2"), 7.75 (1H, уш.с, H-5'); 8.11 (1H, т, *J*=1.47 Гц, H-6), 8.22 (1H, уш.с, H-2'). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (CDCl<sub>3</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.): 55.84 (2C, OCH<sub>3</sub>-Ph), 55.93 (C, OCH<sub>3</sub>-Py), 108.29, 110.84, 111.26, 112.75, 117.18, 123.73, 126.68, 134.45, 135.49, 142.41, 142.67; 148.25; 149.04, 154.51. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>17</sub>H<sub>17</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>] = 312.13 (100.0%), 313.14 (18.4%), найдено 312.10 (100.0%), 313.10 (16.4%)

#### Деметилирование имидазолов (30б,в)

Смесь 0.5 ммоль имидазолов (**306**,**в**) и 1 г пиридиний хлорида нагревали при 210 °C 3 ч (в течение 1.5 ч нагревали до 200-210 °C и 1.5 ч – при этой температуре). Реакционную смесь выливали на лед, добавляли концентрированный раствор аммиака до рН 7 и экстрагировали этилацетатом. Экстракт сушили над безводным сульфатом магния, растворитель отгоняли. Остаток промывали хлористым метиленом и очищали колоночной хроматографией (элюент хлористый метилен-метанол).

<sup>3'</sup> м.д.): 6.92 (2H, д, J=8.79 Гц, H-3",5"), 7.57 (1H, дд, J=8.79, 2.93 Гц, H-4), 7.80 (2H, д, J=8.79 Гц, H-2",6"), 7.93 (1H, д, J=8.79 Гц, H-3), 8.17 (1H, д, J=2.44 Гц, H-6), 8.64 (1H, д, J=1.47 Гц, H-5'), 9.81 (1H, д, J=1.47 Гц, H-2'), 10.10 (1H, уш.с., OH-Ph), 10.90 (1H, уш.с., OH-Py). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО-d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.): 112.86; 115.37; 115.98; 117.39; 125.68; 127.28; 133.26; 134.40; 136.34; 138.64; 154.94; 158.78. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>] = 254.09 (100.0%), 255.10 (15.1%), найдено 254.05 (100.0%), 255.06 (14.1%). вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>-H<sup>+</sup>] = 252.08 (100.0%), 253.08 (15.1%), найдено 252.04 (100.0%), 253.03 (15.0%)



### 4-(1-(5-гидроксипиридинил-2)-1Н-

#### имидазолил-4)бензо-1,2-диол (Зв).

Кремовые кристаллы. Выход 0.075 г (55%). Т. пл. 157-160 °С.

Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО- $d_6$ , 100 МГц,  $\delta$ ,

м.д.): 6.74 (1Н, д, *J*=8.30 Гц, H-5''), 7.11 (1Н, дд, *J*=8.30, 1.95 Гц, H-6''), 7.27 (1Н, д, *J*=1.95 Гц, H-2''), 7.37 (1Н, дд, *J*=8.55, 3.17 Гц, H-4), 7.64 (1Н, д, *J*=9.28 Гц, H-3); 8.02 (2Н, м, H-6, H-5'), 8.34 (1Н, уш.с, *J*=0.98 Гц, H-2'), 8.88 (2Н,

уш.с., ОН-Рh), 10.13 (1H, уш.с., ОН-Ру). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО-d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 112.46, 113.29, 115.73, 116.03, 124.28, 125.53, 134.30, 135.31, 135.82, 141.99, 144.62; 145.26; 152.67, 154.29. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>] = 270.09 (100.0%), 271.09 (15.1%), найдено 270.01 (100.0%), 271.02 (14.1%). вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>11</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>-H<sup>+</sup>] = 268.07 (100.0%), 269.08 (15.1%), найдено 268.03 (100.0%), 269.04 (15.0%)

### 3.4 Синтез аналогов ресвератрола с остовом имидазо[4,5b]пиридина

#### Получение 5-бром-3-нитропиридинамина-2 (33)

Раствор 2 г (11.56 ммоль) 5-бромпиридин-2-амина в 12 см<sup>3</sup> серной кислоты охлаждали до 0 °С при постоянном перемешивании добавляли 0,6 см<sup>3</sup> (13.57 ммоль) 95% азотной кислоты. Реакционную смесь перемешивали при охлаждении ещё 1 ч, затем - 1 ч при комнатной температуре, 1 ч - при 50-60 °С. Смесь выливали в 115 г льда и нейтрализовали 40 % раствором гидроксида натрия. Осадок отфильтровывали, промывали водой.

**5-Бром-3-нитропиридинамин-2 (33)**. Желтый кристаллический порошок. Выход 2.13 г (85 %). Т. пл. 206-208 °С (лит. Т. пл. 204-208 °С [160]).

Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 8.00 (2H, уш.с, NH<sub>2</sub>); 8.46, (1H, д, 2.29 Гц, H-6); 8.48 (1H, д, 2.29 Гц, H-4). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО-d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 103.50; 127.06; 136.05; 152.36; 156.28.

#### Получение 5-иодо-3-нитропиридинамина-2 (38)

Раствор 0.50 г (3.6 ммоль) 2-амино-3-нитропиридина, 0.24 г (1.12 ммоль) периодата натрия, 0.1 см<sup>3</sup> серной кислоты в 2.2 см<sup>3</sup> уксусной кислоты, 0.5 см<sup>3</sup> воды при перемешивании нагревали на водяной бане в течение 15 минут. Затем порциями добавляли 0,46 г (1.8 ммоль) иода в течение 2 часов.

Смесь нагревали при 90 °C еще в течение 1.5 часа, охлаждали до комнатной температуры и добавляли 5 см<sup>3</sup> насыщенного раствора тиосульфата натрия. Осадок отфильтровывали, промывали 2 раза по 2 см<sup>3</sup> насыщенного раствора соли и 2 см<sup>3</sup> воды.

**5-Иодо-3-нитропиридинамин-2 (38)**. Оранжевые кристаллы. Выход 0.87 г (91 %). Т. пл. 213-215 °С (лит. Т. пл.213-215 °С [168]).

#### Получение диаминов (34), (39)

Смесь 10.6 ммоль 5-бром- или 5-иод-3-нитропиридинамина-2, 6.39 г (0.114 моль) железной стружки, 0.2 см<sup>3</sup> соляной кислоты в 8 см<sup>3</sup> этанола и 2 см<sup>3</sup> воды нагревали на водяной бане при перемешивании в течение 1 ч. Затем фильтровали и остаток промывали горячим этанолом. Фильтрат упаривали, остаток кристаллизовали из воды.

**5-Бромпиридиндиамин-2,3** (**34**). Светло-желтые кристаллы. Выход 1.18 г (59 %). Т. пл. 162-164 °С. (лит. Т. пл. 163 °С [160]).Спектральные характеристики соответствуют литературным данным [169].

**5-Иодпиридиндиамин-2,3 (39).** Бесцветные кристаллы. Выход 1.25 г (50 %). Т. пл. 106 °С (лит. Т. пл. 109-111 °С [170]). Спектральные характеристики соответствуют литературным данным [170].

#### Конденсация диаминов (34), (39) с ароматическими альдегидами

Смесь 2 ммоль 5-бром- или 5-иодпиридиндиамина-2,3, 2 ммоль соответствующего альдегида, 0.38 г (2 ммоль) пиросульфита натрия и 8-10 см<sup>3</sup> N,N-диметилформамида нагревали в течение 6 ч на масляной бане при температуре 140°C. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, добавляли 10 см<sup>3</sup> холодной воды, выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой.

#### **6-Бром-2-(4-метоксифенил)-1(3)***Н*-имидазо[4,5-*b*]пиридин (35а).



Кристаллы кремового цвета. Выход 0.52 г (85 %). Т. пл. выше 290 °С (лит. Т. пл. 298°С). Спектральные характеристики соответствуют литера-

турным данным [124].

#### 6-Бром-2-(3,4-диметоксифенил)-1(3)*Н*-имидазо[4,5-*b*]пиридин (35б).



Кристаллы кремового цвета. Выход 0.43 г (64 %).Т. пл. 276-278°С. (лит. Т. пл. 276 °С). Спектральные характеристики соответствуют литера-

турным данным [124].

#### 6-Иод-2-(3,4-диметоксифенил)-1(3)*Н*-имидазо[4,5-*b*]пиридин (40).



Кристаллы кремового цвета. Выход 0.58 г (76 %).Т. пл. 211-212 °С.

#### Получение имидазо[4,5-b]пиридинов (36а,б)

В реакционном сосуде емкостью 10 см<sup>3</sup> растворяли 0.12 г (5.2 ммоль) металлического натрия в 3 см<sup>3</sup> метанола, добавляли 0.06 г (0.42 ммоль) мелкодисперсного порошка оксида меди (I), 0.30 г (0.99 ммоль) 6-бром-2-(4метоксифенил)-3H-имидазо[4,5-b]пиридина. Смесь нагревали в микроволновом реакторе 200 мин при температуре 140 °C. По истечении времени в реакционную смесь добавляли 5 см<sup>3</sup> метанола и отфильтровывали, раствор упаривали, твердый остаток растворяли в 5 см<sup>3</sup> воды, доводили раствор до нейтральной среды добавлением HCl конц., выпавший осадок отфильтровывали, промывали водой.

#### 6-метокси-2-(4-метоксифенил)-1(3)Н-имидазо[4,5-b]пиридин (36а).

 $H_3CO_{4}^{6}$   $H_3CO_{5}^{7}$   $H_3^{7a}$   $N_{4}^{7a}$   $N_{2}^{7a}$   $H_{3}^{7a}$   $N_{4}^{7a}$   $N_{2}^{7a}$   $N_{2}^{7a}$ 

м.д.): 3.16 (3H, c, OCH<sub>3</sub>-Ph); 3.79 (3H, c, OCH<sub>3</sub>-Py); 6.95 (2H, д, J=8.79 Гц, H-3', H-5'); 7.75 (1H, д, J=1.95 Гц, H-7); 7.96 (1H, д, J=1.95 Гц, H-5); 8.19 (2H, д, H-2', H-6', J=8.79 Гц); 8.50 (1H, уш.с, NH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО-d<sub>6</sub>, 100 МГц,  $\delta$ , м.д.): 48.49 (OCH<sub>3</sub>); 55.03 (OCH<sub>3</sub>); 108.45; 113.46; 122.87; 128.09; 128.56; 138.73; 139.89; 158.76;159.39; 166.50. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>] = 256.11 (100.0%), 257.11 (15.1%), найдено 256.09 (100.0%), 257.09 (15.0%), вычислено для [C<sub>14</sub>H<sub>13</sub>N<sub>3</sub>O<sub>2</sub>-H<sup>+</sup>] = 254.09 (100.0%), 255.10 (15.1%), найдено 254.05 (100.0%), 255.07 (14.1%)

#### 2-(3,4-диметоксифенил)-6-метокси-1(3)Н-имидазо[4,5-b]пиридин

 $H_{3}CO_{6}^{7}$   $N_{3a}^{7a}$   $N_{4}^{7a}$   $N_{2}^{7a}$   $OCH_{3}$   $N_{4}^{7a}$   $OCH_{3}^{7a}$   $OCH_{3$ 

(366).

 $2^{+}$  Синтез проводили по описанной выше методике с использованием 0.36 г (15.7 ммоль) ме-

таллического натрия, 6 см<sup>3</sup> метанола, 0.045 г (0.31 ммоль) мелкодисперсного порошка оксида меди (I), 0.30 г (0.79 ммоль) 6-иод-2-(3,4-диметоксифенил)-1(3)*H*-имидазо[4,5-*b*]пиридина

Кристаллы кремового цвета. Выход 0.20 г (89%). Т пл. 205-207 °С

Спектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 3.83 (3H, с, OCH<sub>3</sub>-Py); 3.85 (3H, с, OCH<sub>3</sub>-Ph); 3.87 (3H, с, OCH<sub>3</sub>-Ph); 7.09 (1H, д, *J*=7.81 Гц, H-5'); 7.53 (1H, уш.с, H-7); 7.70 -7.89 (2H, м, H-2', H-6'); 8.07 (1H, уш.с, H-5), 13.13 (1H, с, NH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО-d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 55.58 (С, OCH<sub>3</sub>-Ph); 55.61 (С, OCH<sub>3</sub>-Ph); 56.11 (С, OCH<sub>3</sub>-Py); 110.03; 111.94; 115.69; 119.52; 119.88; 122.45; 132.96; 148.94; 150.63; 152.46; 152.97; 153.09. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для  $[C_{15}H_{15}N_3O_3+H^+] = 286.12$ (100.0%), 287.12 (16.2%), найдено 286.10 (100.0%), 287.10 (15.2%), вычислено для  $[C_{15}H_{15}N_3O_3-H^+] = 284.10$  (100.0%), 285.11 (16.2%), найдено 284.07 (100.0%), 285.06 (15.2%)

#### Деметилирование имидазо[4,5-*b*]пиридина (36а)

Суспензию 0.130 г (0.51 ммоль) 6-метокси-2-(4-метоксифенил)-1(3)H-имидазо[4,5-b]пиридина в 4 см<sup>3</sup> абсолютного хлористого метилена продули аргоном и охладили до -17°С. К смеси прибавили раствор 0.48 см<sup>3</sup> (5.1 ммоль) ВВr<sub>3</sub> в 4 см<sup>3</sup> абсолютного хлористого метилена в течение 2 мин, перемешивали при охлаждении 2 ч, затем - 3 ч при комнатной температуре и оставляли на ночь. На следующий день перемешивали еще 5 ч, добавляли 7 см<sup>3</sup> дистиллированной воды. Органический слой отделяли, к водной суспензии добавляли раствор аммиака до pH = 6. Осадок отфильтровывали, промывали водой.

#### 6-Гидрокси-2-(4-гидроксифенил)-1(3)Н-имидазо-[4,5-b]пиридин



(**46**). Бесцветные кристаллы. Выход 0.060 г (51 %). <sup>•</sup>ОН Т. пл. выше 280°С

#### Деметилирование имидазо[4,5-*b*]пиридина (36б)

Смесь 0.180 г (0.63 ммоль) 6-метокси-2-(3,4-диметоксифенил)-1(3)Нимидазо[4,5-*b*]пиридина и 1.62 г (14.5 ммоль) пиридиний хлорида нагревали при перемешивании 3 ч (в течение 1.5 ч нагревали до 200-210 °C и 1.5 ч – при этой температуре). Реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, добавляли 3 см<sup>3</sup> метанола, концентрированный раствор аммиака до рН 7 и упаривали. Остаток очищали колоночной хроматографией (элюент хлористый метилен-метанол).

#### 4-(6-гидрокси-1(3)Н-имидазо[4,5-b]пиридинил-2)бензо-1,2-диол (4в).

Кристаллическое вещество кремового цвета. Выход

 $HO_{5}$   $N_{4}$   $N_{1}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{3a}$   $N_{H}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{3a}$   $N_{H}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{3a}$   $N_{H}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{3a}$   $N_{1}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{3a}$   $N_{1}$   $N_{2}$   $N_{2}$   $N_{3a}$   $N_{1}$   $N_{2}$   $N_{2}$  NСпектр ЯМР <sup>1</sup>Н (ДМСО-d<sub>6</sub>, 400 МГц, δ, м.д.): 7.02 (1Н, д, J=7.82 Гц, H-5'); 7.62 (1Н, д, J=2.44 Гц, H-7); 7.63-7.68 (2Н, м, Н-2′, Н-6′); 8.13 (1Н, д, Ј=1.95 Гц, Н-5); 8.81 (1Н, уш.с, ОН-Ру); 9.59 (1Н, уш.с, OH-Ph); 10.34 (1H, уш.с, OH-Ph); 10.64 (1H, уш.с, NH). Спектр ЯМР <sup>13</sup>С (ДМСО-d<sub>6</sub>, 100 МГц, δ, м.д.): 108.03; 114.95; 116.42; 120.51; 126.23; 127.40; 133.72; 140.47; 146.06; 150.65; 151.57; 152.01. Масс-спектр (ESI) m/z: вычислено для [C<sub>12</sub>H<sub>9</sub>N<sub>3</sub>O<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>] = 244.07 (100.0%), 245.08 (13.0%), найдено 244.05 (100.0%), 245.03 (12.5%), вычислено для  $[C_{12}H_9N_3O_3-H^+] = 242.06 (100.0\%),$ 243.06 (13.0%), найдено 242.03 (100.0%), 243.03 (12.0%)

#### 3.5 Исследование антирадикальной активности

Готовили серию этанольных растворов, содержащих ДФПГ (конечная концентрация 45 µM) и исследуемые соединения (конечные концентрации 0-1000 µМ). Растворы выдерживали в течение 30 минут в темноте. Измерение оптической плотности проводили при 517 нм.

### **3.6 Исследование кинетики поглощения кислорода в реакции** окисления линолевой кислоты

В термостатируемый (37 °C) реакционный сосуд добавляли насыщенный кислородом фосфатный буфер (pH 7.4) объемом 1.080 см<sup>3</sup> и 1.200 см<sup>3</sup> 16 мМ линолевой кислоты (в фосфатном буфере (pH 7.4) с добавлением 4 мМ Твин 20). Смесь перемешивали в течение 10 минут и добавляли 0.025 см<sup>3</sup> растворов исследуемых соединений и выдерживали 15 минут. Затем добавляли 0.120 см<sup>3</sup> 40 мМ раствора инициатора (ААРН) в фосфатном буфере. Регистрировали изменение концентрации кислорода посредством электрода Кларка.

## 3.7 Исследование влияния рН и окислителей на фотофизические свойства стильбазола (1в)

Раствор  $O_2^{\bullet}$  был получен путем растворения  $KO_2$  в сухом ДМСО в течении 1 часа. Концентрацию  $O_2^{\bullet}$  определяли по поглощению при 250 нм ( $\epsilon$ = 2682 M<sup>-1</sup>·cm<sup>-1</sup>). Раствор NO был получен путем растворения Na<sub>2</sub>[Fe(CN)<sub>5</sub>NO]·2H<sub>2</sub>O в воде. Раствор <sup>1</sup>O<sub>2</sub> получили путем смешивания водного раствора пероксида водорода и раствора гипохлорита натрия. Раствор H<sub>2</sub>O<sub>2</sub> получали путем разбавления 35% раствора пероксида водорода.

Готовили серию растворов, содержащих исследуемые соединения (20 µМ в фосфатном буфере с рН 7.4) и различные концентрации реагентов (NO, O<sub>2</sub><sup>--</sup>, H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>, <sup>1</sup>O<sub>2</sub>). Растворы выдерживали в течение 40 минут. Затем регистрировали спектры поглощения и флуоресценции.

#### выводы

1 Предложена структура гетероциклических аналогов ресвератрола, для которых проведена теоретическая оценка ADMET параметров и квантово-химические расчеты ключевых дескрипторов антиоксидантной активности. Результаты проведенных расчетов указывают на улучшение указанных показателей для предлагаемых аналогов в сравнении с нативной структурой.

2 Разработана схема синтеза гидроксилированных и метоксилированных производных 2-стильбазола, отличающихся количеством и положением функциональных групп, а также их *N*-метильных производных. На основании предложенной схемы синтезировано 30 новых соединений.

3 Предложены препаративные методы синтеза аналогов, содержащих гетероциклический линкер. Осуществлен синтез производных 6-(4-фенил-*1Н*-имидазолил-1)пиридинола-3 и 2-фенил-1(3)*H*-имидазо [4,5-*b*]пиридинола-6.

4 Проведена оценка антирадикальной и антиоксидантной активности гетероциклических аналогов ресвератрола в ДФПГ тесте, кинетическим методом в модельной реакции окисления линолевой кислоты и ее зависимости от структуры. Показано, что наличие гидроксильной группы в *n*-положении к двойной связи обусловливает высокую антиоксидантную активность. Увеличение числа гидроксильных групп в соседних положениях и введение этильного радикала в пиридиновом кольце приводит к увеличению антиоксидантных свойств. Ряд полученных соединений можно позиционировать в качестве высокоэффективных антиоксидантов.

5 Исследованы комлексообразующие свойства синтезированных соединений, содержащих фрагменты пирокатехина и пирогаллола. Показано, что производные пирогаллола (1д), (2д) более эффективно связывают ионы Fe<sup>2+</sup>, что позволяет рассматривать для них дополнительный механизм антиоксидантного действия на стадии инициированя ПОЛ.

6 Исследованы флуоресцентные свойства гетероциклических аналогов

174

ресвератрола. Установлена их зависимость от структуры соединений, кислотно-основных и окислительно-восстановительных параметров среды. Показана возможность использования соединения (**1**в) для флуоресцентного определения O<sub>2</sub><sup>--</sup> и потенциал создания на его основе флуоресцентных зондов.

7 Показано, что токсичность синтезированных гетероциклических аналогов не превышает таковую для ресвератрола, что делает возможным их биомедицинское применение.

#### СПИСОК ИСПОЛЬЗОВАННЫХ ИСТОЧНИКОВ

1. Меньщикова Е.Б. Окислительный стресс. Патологические состояния и заболевания / [Е.Б. Меньщикова, Н.К. Зенков, В.З. Ланкин и др.]. – Новосибирск: «АРТА», 2008. – 284 с.

2. Burns J. Plant Foods and Herbal Sources of Resveratrol / J. Burns, T. Yokota, H. Ashihara, M.E.J. Lean, A. Crozier // J. Agric. Food Chem. – 2002. – Vol. 50, Issue 11. – P. 3337-3340

3. Bonnefont-Rousselot D. Resveratrol and Cardiovascular Diseases / D. Bonnefont-Rousselot // Nutrients. - 2016. - V. 8. - P. 250-273.

4. Khan O.S. Therapeutic Potential of Resveratrol in Lymphoid Malignancies / O.S. Khan, A.A. Bhat, R. Krishnankutty, R.M. Mohammad, S. Uddin // Nutr. Cancer. - 2016. - V. 68. - P. 365–373.

5. Singh N. Neuroprotective Properties and Mechanisms of Resveratrol in *in Vitro* and *in Vivo* Experimental Cerebral Stroke Models / N. Singh, M. Agrawal, S. Doré // ACS Chem. Neurosci. - 2013. - V. 4. - P. 1151–1162.

 Poulsen M.M. Resveratrol and inflammation: Challenges in translating pre-clinical findings to improved patient outcomes / M.M. Poulsen, K. Fjeldborg, M.J. Ornstrup, T.N. Kjær, M.K. Nøhr, S.B. Pedersen // Biochim. Biophys. Acta. -2015. - V. 1852. - P. 1124-1136.

Markus M.A. Resveratrol in prevention and treatment of common clinical conditions of aging / M.A. Markus, B.J. Morris // Clin. Interv. Aging. - 2008. - V.
 - P 331–339.

 Вурлакова Е.Б. Гибридные антиоксиданты / Е.Б. Бурлакова // «Биоантиоксидант»: материалы 7-ой межд. конф., 25–26 октября 2006 г., Москва – М.: Изд-во РУДН. – 2006. – С. 3.

9. Shaito A. Potential Adverse Effects of Resveratrol: A Literature Review /
A. Shaito, A.M. Posadino, N. Younes, H. Hasan, S. Halabi, D. Alhababi, A. AlMohannadi, W.M. Abdel-Rahman, A.H. Eid, G.K. Nasrallah, G. Pintus // Int. J.
Mol. Sci. - 2020. - V. 21. - P. 2084-2109.

10. Ruivo J. The main potentialities of resveratrol for drug delivery systems
/ J. Ruivo, C. Francisco, R. Oliveira, A. Figueiras // Braz. J. Pharm. Sci. - 2015. V. 51. - P. 499–514.

11. Wang F. Dominant Carbons in *trans*- and *cis*-Resveratrol Isomerization /
F. Wang, S. Chatterjee // J. Phys. Chem. B. - 2017. - V. 121, Issue 18. - P. 4745–4755.

12. Tosato M.G. Clearing up the photochemistry of resveratrol: Effect of the solvent / M.G. Tosato, P. Vicendo, A.H. Thomas, C. Lorente // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. - 2018. - V. 367. - P. 327–331

13. Zupančič Š. Stability and solubility of *trans*-resveratrol are strongly influenced by pH and temperature / Š. Zupančič, Z. Lavrič, J. Kristl // Eur. J. Pharm. Biopharm. - 2015. - V. 93. - P. 196–204.

14. Nieoczym D. Anticonvulsant Activity of Pterostilbene in Zebrafish and Mouse Acute Seizure Tests / D. Nieoczym, K. Socala, K. Gawel, C.V. Esguerra, E. Wyska, P. Wlaź // Neurochem. Res. - 2019. - V. 44. - P. 1043–1055.

15. Martínez-Márquez A. Production of highly bioactive resveratrol analogues pterostilbene and piceatannol in metabolically engineered grapevine cell cultures / A. Martínez-Márquez, J.A. Morante-Carriel, K. Ramírez-Estrada, R.M. Cusidó, J. Palazon, R. Bru-Martínez // Plant Biotech. J. - 2016. - V. 14. - P. 1813– 1825.

16. Bellina F. Imidazole analogues of resveratrol: synthesis and cancer cell growth evaluation / F. Bellina, N. Guazzelli, M. Lessi, C. Manzini // Tetrahedron. – 2015. – Vol. 71, Issue 15, P. 2298-2305.

17. Vergara D. Anticancer effects of novel resveratrol analogues on human ovarian cancer cells / D. Vergara, S. De Domenico, A. Tinelli, E. Stanca, L.L. del Mercato, A.M. Giudetti, P. Simeone, N. Guazzelli, M. Lessi, C. Manzini, A. Santino, F. Bellina, M. Maffia // Mol. BioSyst. – 2017. – Vol. 13. – P. 1131-1141.

18. Sun B. Design, synthesis, and biological evaluation of resveratrol analogues as aromatase and quinone reductase 2 inhibitors for chemoprevention of

177

cancer / B. Sun, J. Hoshino, K. Jermihov, L. Marler, J.M. Pezzuto, A.D. Mesecar, M. Cushman // Bioorg. Med. Chem. – 2010. - Vol. 18, Issue 14, P. 5352-5366.

19. Nagaradja E. Deprotometalation–iodolysis and computed CH acidity of 1,2,3- and 1,2,4-triazoles. Application to the synthesis of resveratrol analogues / E. Nagaradja, G. Bentabed-Ababsa, M. Scalabrini, F. Chevallier, S. Phillipot, S. Fontanay, R.E. Duval, Y.S. Halauko, O.A. Ivashkevich, V.E. Matulis, T. Roisnel, F. Mongin // Bioorg. Med. Chem. – 2015. – Vol. 23, Issue 19. – P. 6355-6363.

20. Pagliai F. Rapid Synthesis of Triazole-Modified Resveratrol Analogues via Click Chemistry / F. Pagliai, T. Pirali, E. Del Grosso, R. Di Brisco, G.C. Tron, G. Sorba, A.A. Genazzani // J. Med. Chem. – 2006. –Vol. 49. – P. 467-470.

21. Mayhoub A.S. Optimization of the aromatase inhibitory activities of pyridylthiazole analogues of resveratrol / A.S. Mayhoub, L. Marler, T.P. Kondratyuk, E.-J. Park, J.M. Pezzuto, M. Cushman // Bioorg. Med. Chem. – 2012. – Vol. 20. – P. 2427–2434.

22. Mayhoub A.S. Optimizing thiadiazole analogues of resveratrol versus three chemopreventive targets / A.S. Mayhoub, L. Marler, T.P. Kondratyuk, E.-J. Park, J.M. Pezzuto, M. Cushman // Bioorg. Med. Chem. – 2012. – Vol. 20. – P. 510–520.

23. Mayhoub A.S. Optimization of thiazole analogues of resveratrol for induction of NAD(P)H:quinone reductase 1 (QR1) / A.S. Mayhoub, L. Marler, T.P. Kondratyuk, E.-J. Park, J.M. Pezzuto, M. Cushman // Bioorg. Med. Chem. – 2012. – Vol. 20. – P. 7030–7039.

24. Sahin Z. Studies on non-steroidal inhibitors of aromatase enzyme; 4-(aryl/heteroaryl)-2-(pyrimidin-2-yl)thiazole derivatives / Z. Sahin, M. Ertas, B. Berk, S.N. Biltekin, L. Yurttas, S. Demirayak // Bioorg. Med. Chem. – 2018. – Vol. 26. – P. 1986–1995.

25. Clouser C.L. Anti-HIV-1 activity of resveratrol derivatives and synergistic inhibition of HIV-1 by the combination of resveratrol and decitabine / C.L. Clouser, J. Chauhan, M.A. Bess, J.L. van Oploo, D. Zhou, S. Dimick-Gray, L.M.

178

Mansky, S.E. Patterson // Bioorg. Med. Chem. Let. – 2012. – Vol. 22. –P. 6642– 6646.

26. Sala M. Synthesis and cytotoxic activity evaluation of 2,3-thiazolidin-4one derivatives on human breast cancer cell lines / M. Sala, A. Chimento, C. Saturnino, I.M. Gomez-Monterrey, S. Musella, A. Bertamino, C. Milite, M.S. Sinicropi, A. Caruso, R. Sirianni, P. Tortorella, E. Novellino, P. Campiglia, V. Pezzi // Bioorg. Med. Chem. Let. – 2013. – Vol. 23, Issue 17. – P. 4990-4995.

27. Chimento A. Biological activity of 3-chloro-azetidin-2-one derivatives having interesting antiproliferative activity on human breast cancer cell lines / A. Chimento, M. Sala, I.M. Gomez-Monterrey, S. Musella, A. Bertamino, A. Caruso, M.S. Sinicropi, R. Sirianni, F. Puoci, O.I. Parisi, C. Campana, E. Martire, E. Novellino, C. Saturnino, P. Campiglia, V. Pezzi // Bioorg. Med. Chem. Let. – 2013. – Vol. 23, Issue 23. – P. 6401-6405.

28. Tanini D. Resveratrol-based benzoselenophenes with an enhanced antioxidant and chain breaking capacity / D. Tanini, L. Panzella, R. Amorati, A. Capperucci, E. Pizzo, A. Napolitano, S. Menichettia, M. d'Ischia // Org. Biomol. Chem. – 2015. – Vol. 13. – P. 5757-5764.

29. Domazetovic V. Protective role of benzoselenophene derivatives of resveratrol on the induced oxidative stress in intestinal myofibroblasts and osteocytes / V. Domazetovic, F. Fontani, D. Tanini, V. D'Esopo, C. Viglianisi, G. Marcucci, L. Panzella, A. Napolitano, M. L. Brandi, A. Capperucci, S. Menichetti, M. T. Vincenzini, T. Iantomasi // Chemico-Biological Interact. – 2017. – Vol. 275. – P. 13-21.

30. Bertini S. Synthesis of heterocycle-based analogs of resveratrol and their antitumor and vasorelaxing properties / S. Bertini, V. Calderone, I. Carboni, R. Maffei, A. Martelli, A. Martinelli, F. Minutolo, M. Rajabi, L. Testai, T. Tuccinardi, R. Ghidoni, M. Macchia // Bioorg. Med. Chem. – 2010. – Vol. 18. –P. 6715–6724.

31. Matos M.J. Study of Coumarin-Resveratrol Hybrids as Potent Antioxidant Compounds / M.J. Matos, F. Mura, S. Vazquez-Rodriguez, F. Borges, L. Santana, E. Uriarte, C. Olea-Azar // Molecules – 2015. – Vol. 20. – P. 3290-3308. 32. Kim M.H. Synthesis of Pyronyl Derivatives as Resveratrol Analogues and Their Inhibitory Effects on Nitric Oxide and PGE2 Productions / M.H. Kim, J.-S. Shin, K.-T. Lee, Y.S. Lee // Bull. Korean Chem. Soc. – 2011. - Vol. 32, Issue 1. – P. 299-302.

33. Xu P. Synthesis and biological evaluation of deferiprone-resveratrol hybrids as antioxidants,  $A\beta 1$ –42 aggregation inhibitors and metal-chelating agents for Alzheimer's disease / P. Xu, M. Zhang, R. Sheng, Y. Ma // Eur. J. Med. Chem. – 2017. – Vol. 127. – P. 174-186.

34. Jiang L. Identification of 2-subsituted benzothiazole derivatives as triplefunctional agents with potential for AD therapy / L. Jiang, M. Zhang, L. Tang, Q. Weng, Y. Shen, Y. Hua, R. Sheng // RSC Adv. – 2016. – Vol. 6. – P. 17318– 17327.

35. Penthala N.R. Heteroaromatic analogs of the resveratrol analog DMU-212 as potent anti-cancer agents / N.R. Penthala, S. Thakkar, P.A. Crooks // Bioorg. Med. Chem. Lett. – 2015. - Vol. 25, Issue 14. – P. 2763-2767.

36. Yang J. Hybrid-Increased Radical-Scavenging Activity of Resveratrol Derivatives by Incorporating a Chroman Moiety of Vitamin E / J. Yang, G.-Y. Liu, D.-L. Lu, F. Dai, Y.-P. Qian, X.-L. Jin, B. Zhou // Chem. Eur. J. – 2010. – Vol. 16. – P. 12808 – 12813.

37. Kálai T. Synthesis and study of new paramagnetic resveratrol analogues
/ T. Kálai, E. Borza, C. Antus, B. Radnai, G. Gulyás-Fekete, A. Fehér, B. Sümegi,
K. Hideg // Bioorg. Med. Chem. - 2011. - Vol. 19. - P. 7311–7317.

38. Kamal A. Design, synthesis and antiproliferative activity of the new conjugates of E7010 and resveratrol as tubulin polymerization inhibitors / A. Kamal, Md. Ashraf, S.T. Basha, S.M Ali Hussaini, S. Singh, M.V.P.S. Vishnuvardhan, B. Kiran, B. Sridhar // Org. Biomol. Chem. - 2016. - Vol. 14. - P. 1382-1394.

39. Kim J.-Y. Resveratrol analogue (E)-8-acetoxy-2-[2-(3,4-diacetoxyphenyl)ethenyl]-quinazoline induces G2/M cell cycle arrest through the activation of ATM/ATR in human cervical carcinoma HeLa cells / J.-Y. Kim, H.-

180
E. Choi, H.-H. Lee, J.-S. Shin, D.-H. Shin, J.-H. Choi, Y.S. Lee, K.-T. Lee // Oncol. Reports. - 2015. - Vol. 33. - P. 2639-2647.

40. Park J.H. Styrylquinazolines: A New Class of Inhibitors on Prostaglandin E2 Production in Lipopolysaccharide-activated Macrophage Cells / J.H. Park, H.-Y. Min, S.S. Kim, J.Y. Lee, S. K. Lee, Y. S. Lee // Arch. Pharm. - 2004. - V. 337. - P. 20–24.

41. Park E.Y. Resveratrol analogue (E)-8-acetoxy-2-[2-(3,4-diacetoxyphenyl)ethenyl]-quinazoline induces apoptosis via Fas-mediated pathway in HL-60 human leukemia cells / E.Y. Park, J.-I. Kim, D.-G. Leem, J.-S. Shin, K.-T. Kim, S.Y. Choi, M.-H. Lee, J.-H. Choi, Y. S. Lee, K.-T. Lee // Oncol. Reports. - 2016. - V. 36. - P. 3577-3587.

42. Srivastava V. Synthesis and bio-evaluation of novel quinolino-stilbene derivatives as potential anticancer agents / V. Srivastava, H. Lee // Bioorg. Med. Chem. - 2015. - V. 23. - P. 7629–7640.

43. Martí-Centelles R. Inhibitory effect of cytotoxic nitrogen-containing heterocyclic stilbene analogues on VEGF protein secretion and VEGF, hTERT and c-Myc gene expression / R. Martí-Centelles, J. Murga, E. Falomir, M. Carda, J. A. Marco // Med. Chem. Commun. - 2015. - V. 6. - P. 1809–1815.

44. De Filippis B. Synthesis and cytotoxic effects on pancreatic cancer cells of resveratrol analogs / B. De Filippis, L. De Lellis, R. Florio, A. Ammazzalorso, P. Amoia, M. Fantacuzzi, L. Giampietro, C. Maccallini, R. Amoroso, S. Veschi, A. Cama // Med. Chem. Res. - 2019. - Vol. 28. - P. 984–991.

45. Abdulla A. Natural Polyphenols Inhibit Lysine-Specific Demethylase-1 in vitro / A. Abdulla, X. Zhao, F. Yang // J. Biochem. Pharmacol. Res. - 2013. - V. 1. - P. 56–63.

46. Duan Y.-C. Discovery of resveratrol derivatives as novel LSD1 inhibitors: Design, synthesis and their biological evaluation / Y.-C. Duan, Y.-Y. Guan, X.-Y. Zhai, L.-N. Ding, W.-P. Qin, D.-D. Shen, X.-Q. Liu, X.-D. Sun, Y.-C. Zheng, H.-M. Liu // Eur. J. Med. Chem. - 2017. - Vol. 126. - P. 246-258.

47. Duan Y. Design, synthesis and in vitro evaluation of stilbene derivatives as novel LSD1 inhibitors for AML therapy / Y. Duan, W. Qin, F. Suo, X. Zhai, Y. Guan, X. Wang, Y. Zheng, H. Liu // Bioorg. Med. Chem. - 2018. - Vol. 26. - P. 6000-6014.

48. Bhat K.P.L. Estrogenic and Antiestrogenic Properties of Resveratrol in Mammary Tumor Models / K.P.L. Bhat, D. Lantvit, K. Christov, R. G. Mehta, R.
C. Moon, J. M. Pezzuto // Cancer Res. - 2001. - Vol. 61. - P. 7456-7463.

49. Pugachev M.V. Synthesis and Antitumor Activity of Novel Pyridoxine-Based Bioisosteric Analogs of trans-Stilbenes / M.V. Pugachev, T.T.N. Nguyen, T.M. Bulatov, R.S. Pavelyev, A.G. Iksanova, O.V. Bondar, K.V. Balakin, Y.G. Shtyrlin // Journal of Chemistry. - 2017. - Vol. 2017. - P. 1-7.

50. Pugachev M.V. Synthesis and antitumor activity of pyridoxine monoalkenyl derivatives / M.V. Pugachev, R.S. Pavelyev, T.N.T. Nguyen, A.G. Iksanova, O.A. Lodochnikova, Yu.G. Shtyrlin // Russ. Chem. Bull. – 2016. – Vol. 65. – P. 532–536

51. Li W. Pyridoxine-resveratrol hybrids as novel inhibitors of MAO-B with antioxidant and neuroprotective activities for the treatment of Parkinson's disease / W. Li, X. Yang, Q. Song, Z. Cao, Y. Shi, Y. Deng, L. Zhang // Bioorganic Chem. - 2020. - Vol. 97. - 103707.

52. Yang X. Pyridoxine-Resveratrol hybrids Mannich base derivatives as novel dual inhibitors of AChE and MAO-B with antioxidant and metal-chelating properties for the treatment of Alzheimer's disease / X. Yang, X. Qiang, Y. Li, L. Luo, R. Xu, Y. Zheng, Z. Cao, Z. Tan, Y. Deng // Bioorganic Chem. - 2017. - Vol. 71. - P. 305-314.

53. Mao F. New multi-target-directed small molecules against Alzheimer's disease: a combination of resveratrol and clioquinol / F. Mao, J. Yan, J. Li, X. Jia, H. Miao, Y. Sun, L. Huang, X. Li // Org. Biomol. Chem. - 2014. - Vol. 12. - P. 5936-5944.

54. Meng X.-L. Effects of resveratrol and its derivatives on lipopolysaccharide-induced microglial activation and their structure–activity relationships / X.-L. Meng, J.-Y. Yang, G.-L. Chen, L.-H. Wang, L.-J. Zhang, S. Wang, J. Li, C.-F. Wu // Chem.-Biol. Interact. - 2008. - Vol. 174. - P. 51–59.

55. Meng X.L. RV09, a novel resveratrol analogue, inhibits NO and TNF-α production by LPS-activated microglia / X.L. Meng, J.Y. Yang, G.L. Chen, L. J. Zhang, L.H. Wang, J. Li, J. M. Wang, C.F. Wu // Int. Immunopharmacol. - 2008. - Vol. 8. - P. 1074–1082.

56. Chen G. Synthesis and Anti-inflammatory Activity of Resveratrol Analogs / G. Chen, W. Shan, Y. Wu, L. Ren, J. Dong, Z. Ji // Chem. Pharm. Bull. -2005. - V. 53. – P. 1587-1590.

57. Molstar: Интернет-ресурс для визуализации и анализа крупномасштабных молекулярных данных. URL: https://molstar.org/viewer/

58. Pennington L.D. The Necessary Nitrogen Atom: A Versatile High-Impact Design Element for Multiparameter Optimization / L.D. Pennington, D.T. Moustakas // J. Med. Chem. – 2017. – Vol. 60, Issue 9. – P. 3552–3579

59. Marier J.F. Metabolism and disposition of resveratrol in rats: Extent of absorption, glucuronidation, and enterohepatic recirculation evidenced by a linked-rat model / J.F. Marier, P. Vachon, A. Gritsas, J. Zhang, J.P. Moreau, M.P. Du-charme // J. Pharmacol. Exp. Ther. – 2002. – Vol. 302. – P. 369–373.

60. Pratt D.A. 5-Pyrimidinols: Novel Chain-Breaking Antioxidants More Effective than Phenols / D.A. Pratt, G.A. DiLabio, G. Brigati, G.F. Pedulli, L. Valgimigli // J. Am. Chem. Soc. – 2001. –Vol. 123, Issue 19. – P. 4625–4626

61. Перевозкина М.Г. Сравнительная характеристика антиоксидантов «гибридного» строения / М.Г. Перевозкина // Инновации в науке. – 2014. – № 9 (34). – С. 14-29.

62. Szulc Z.M. Tailoring structure–function and targeting properties of ceramides by site-specific cationization / Z.M. Szulc, J. Bielawski, H. Gracz, M. Gustilo, N. Mayroo, Y.A. Hannun, L.M. Obeid, A. Bielawska // Bioorg. Med. Chem. – 2006. - Vol. 14. – P. 7083–7104

63. Cottart C.-H. Review of recent data on the metabolism, biological effects, and toxicity of resveratrol in humans / C.-H. Cottart, V. Nivet-Antoine, J.-L. Beaudeux // Mol. Nutr. Food Res. – 2014. – Vol. 58, Issue 1. – P. 7-21

64. Johnson T.W. Lipophilic Efficiency as an Important Metric in Drug Design / T.W. Johnson, R.A. Gallego, M.P. Edwards // J. Med. Chem. – 2018. – Vol. 61, Issue 15. – P. 6401–6420

65. Xiong G. ADMETlab 2.0: an integrated online platform for accurate and comprehensive predictions of ADMET properties / G.Xiong, Z.Wu, J.Yi, L.Fu, Z.Yang, C.Hsieh, M.Yin, X.Zeng, C.Wu, A.Lu, X.Chen, T.Hou, D.Cao // Nucleic Acids Res. – 2021. - Vol. 49, Issue W1. – P. W5-W14.

66. Waring M.J. Lipophilicity in drug discovery / M.J. Waring // Expert Opin. Drug Discovery. – 2010. – Vol. 5, Issue 3. – P. 235–248

67. Pajouhesh H. Medicinal Chemical Properties of Successful Central Nervous System Drugs / H. Pajouhesh, G.R. Lenz // NeuroRx. - 2005. – Vol. 2, Issue 4. – P. 541–553.

68. Hitchcock S.A. Structure - Brain Exposure Relationships / S.A. Hitchcock, L.D. Pennington // J. Med. Chem. – 2006. – Vol. 49, Issue 26. – P. 7559– 7583.

69. Daina A. A BOILED-Egg To Predict Gastrointestinal Absorption and Brain Penetration of Small Molecules / A. Daina, V. Zoete // ChemMedChem – 2016. – Vol. 11. - P. 1117 – 1121

70. Artursson P. Correlation between oral drug absorption in humans and apparent drug permeability coefficients in human intestinal epithelial (Caco-2) cells / P. Artursson, J. Karlsson // Biochemical and Biophysical Research Communications. – 1991. – Vol. 175, Issue 3. – P. 880–885.

71. Daina A. SwissADME: a free web tool to evaluate pharmacokinetics, drug-likeness and medicinal chemistry friendliness of small molecules / A. Daina,
O. Michielin, V. Zoete // Sci. Rep. – 2017. – Vol. 7. – 42717

72. Juan M.E. Quantification of *trans*-resveratrol and its metabolites in rat plasma and tissues by HPLC / M.E. Juan, M. Maijo, J.M. Planas // J. Pharm. Biomed. Anal. – 2010. – Vol. 51, Issue 2. – P. 391–398.

73. Stork C. NERDD: a web portal providing access to *in silico* tools for drug discovery / C. Stork, G. Embruch, M. Šícho, C. de Bruyn Kops, Y. Chen, D. Svozil, J. Kirchmair // Bioinformatics. - 2020. – Vol. 36, Issue 4. – P. 1291-1292

74. Lagunin A. QSAR Modelling of Rat Acute Toxicity on the Basis of PASS Prediction / A. Lagunin, A. Zakharov, D. Filimonov, V. Poroikov // Mol. Informatics. - 2011. – Vol. 30, Issue 2-3. - P. 241–250.

75. Litwinienko G. Solvent Effects on the Rates and Mechanisms of Reaction of Phenols with Free Radicals / G. Litwinienko, K. U. Ingold // Acc. Chem. Res. – 2007. – Vol. 40, Issue 3. – P. 222–230

76. Schmidt M.W. General atomic and molecular electronic structure system
/ M.W. Schmidt, K.K. Baldridge, J.A. Boatz, S.T. Elbert, M.S. Gordon, J.H. Jensen, S. Koseki, N. Matsunaga, K.A. Nguyen, S. Su, T.L. Windus, M. Dupuis, J.A. Montgomery Jr // Journal of Computational Chemistry. – 1993. - Vol. 14, Issue 11. – P. 1347-1363

77. Becke A.D. Density-functional thermochemistry. III. The role of exact exchange / Becke A.D. // J. Chem. Phys. - 1993. – Vol. 98, Issue 7. – P. 5648–5652

78. Scott A.P. Harmonic vibrational frequencies: an evaluation of Hartree–Fock, Møller–Plesset, quadratic configuration interaction, density functional theory, and semiempirical scale factors / A.P. Scott, L. Radom // J. Phys. Chem. -1996. – Vol. 100. – P. 16502–16513

79. Castro M.E. Comparative theoretical study of the UV/Vis absorption spectra of styrylpyridine compounds using TD-DFT calculations / M.E. Castro, M.J. Percino, V.M. Chapela, G. Soriano-Moro, M. Ceron, F.J. Melendez // J. Mol. Model. - 2013. – Vol. 19. – P. 2015–2026

80. Percino M.J. X-ray crystal structure of 2-styrylpyridine / M.J. Percino,
V.M. Chapela, M. Salmón, G. Espinosa-Pérez, A.M. Herrera, A. Flores // J. Chem.
Crystallogr. - 1997. – Vol. 27. – P. 549–552.

81. Desiraju G.R. The weak hydrogen bond in structural chemistry and biology / G.R. Desiraju, T. Steiner // New York: Oxford University Press, 2001. - 507p.

82. Kang S.S. Synthesis and biological evaluation of a library of resveratrol analogues as inhibitors of COX-1, COX-2 and NF- $\kappa$ B / S.S. Kang, M. Cuendet, D.C. Endringer, V.L. Croy, J.M. Pezzuto, M.A. Lipton // Bioorg. Med. Chem. – 2009. – Vol. 17. – P. 1044 – 1054

83. Amorati R. Antioxidant activity of hydroxystilbene derivatives in homogeneous solution / R. Amorati, M. Lucarini, V. Mugnaini, G.F. Pedulli, M. Roberti, D. Pizzirani // J. Org. Chem. – 2004. – Vol. 69. – P. 7101 – 7107

84. Pettit G.R. Antineoplastic agents. 465. Structural modification of resveratrol: sodium resverastatin phosphate / G.R. Pettit, M.P. Grealish, M.K. Jung, E. Hamel, R.K. Pettit, J.C. Chapuis, J.M. Schmidt // J. Med. Chem. – 2002. – Vol. 45. – P. 2534 – 2542

85. Roberti M. Synthesis and biological evaluation of resveratrol and analogues as apoptosis-inducing agents / M. Roberti, D. Pizzirani, D. Simoni, R. Rondanin, R. Baruchello, C. Bonora, F. Buscemi, S. Grimaudo, M. Tolomeo // J. Med. Chem. – 2003. – Vol. 46. – P. 3546 – 3554

86. de Medina P. Synthesis and biological properties of new stilbene derivatives of resveratrol as new selective aryl hydrocarbon modulators / P. de Medina, R. Casper, J.F. Savouret, M. Poirot // J. Med. Chem. – 2005. – Vol. 48. – P. 287 – 291.

87. Murias M. Resveratrol analogues as selective cyclooxygenase-2 inhibitors: synthesis and structure–activity relationship / M. Murias, N. Handler, T. Erker, K. Pleban, G. Ecker, P. Saiko, T. Szekeres, W. Jäger // Bioorg. Med. Chem. – 2004. – Vol. 12. – P. 5571 – 5578

88. Moro A.V. Heck arylation of styrenes with arenediazonium salts: short, efficient, and stereoselective synthesis of resveratrol, DMU-212, and analogues / A.V. Moro, F.S.P. Cardoso, C.R.D. Correia // Tetrahedron Letters. – 2008. – Vol. 49. – P. 5668 – 5671.

89. Jerchel D. Untersuchungen zur Reaktivität von Alkylgruppen heterocyclischer Verbindungen und ihrer funktionellen Derivate III. Kondensation Von Methylpyridinen Mit Benzaldehyd / D. Jerchel, H.E. Heck // Liebigs Annalen der Chemie. — 1958. — Vol. 613, Issue 1. — S. 171–179.

90. Berdnikova D.V. DNA-ligand interactions gained and lost: light-induced ligand redistribution in a supramolecular cascade / D.V. Berdnikova, T.M. Aliyeu, T. Paululat, Yu.V. Fedorov, O.A. Fedorova, H. Ihmels // Chem. Commun. 2015. – Vol. 51. – P. 4906–4909

91. Ruiz A. Pyridinium chloride: a new reagent for N-demethylation of Nmethylazinium derivatives / A. Ruiz, P. Rocca, F. Marsais, A. Godard, G. Quéguiner // Tetrahedron Lett. - 1997. – Vol. 38, Issue 35. – P. 6205–6208

92. ОФС.1.2.1.0005 Растворимость / Государственная фармакопея РФ;
15-е издание. – М.: ФГБУ «НЦЭСМП» Минздрава России, 2023.

93. Galenko-Yaroshevskii V.P. Antihypoxic and Antinecrotic Effect of Mexidol in Skin Ischemia / V.P. Galenko-Yaroshevskii, E.N. Bagmetova, I.A. Filchukova, A.Yu. Sidelnikov, V.A. Popkov, A.S. Gorelashvili, N.A. Antelava, G.V. Sukoyan // Bulletin of Experimental Biology and Medicine. – 2005. – Vol. 139. - P. 202–206.

94. Lukyanova L.D. Mitochondria-controlled signaling mechanisms of brain protection in hypoxia / L.D. Lukyanova, Y.I. Kirova // Front. Neurosci. - 2015. - Vol. 9. - 320.

95. Bashkatova V. The influence of anticonvulsant and antioxidant drugs on nitric oxide level and lipid peroxidation in the rat brain during penthylenetetrazole-induced epileptiform model seizures / V. Bashkatova, V. Narkevich, G. Vitskova, A. Vanin // Progress in Neuro-Psychopharmacology and Biological Psychiatry. – 2003. - Vol. 27, Issue 3. – P. 487-492

96. Loznikova S.G. The effects of magnesium, acetylsalicylic acid, and emoxypine on platelet aggregation / S.G. Loznikova, A.A. Sukhodola, N.Yu. Shcharbina, D.G. Shcharbin // Biophysics. – 2014. - Vol. 59, Issue 6. - P. 900–903.

97. Yanovskaya N.P. Effect of low-dose emoxypine and pyridoxine hydrochloride on human cataract and glaucoma / N.P. Yanovskaya, V.N. Shtolko, E.B. Burlakova // Bull. Exp. Biol. Med. – 1993. – Vol. 115. – P. 517–520.

98. Пугачева Е.Л. Эффективность препарата Мексидол у пациентов с неврологическими осложнениями сахарного диабета 2-го типа / Е.Л. Пугачева // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2022. – Vol. 122, Issue 5. – Р. 84-89.

99. Volchegorskii I.A. Effect of Pro- and Antioxidants on Insulin Sensitivity and Glucose Tolerance / I.A. Volchegorskii, L.M. Rassokhina, I.Yu. Miroshnichenko, K.M. Mester, P.N. Novoselov, T.V. Astakhova // Bull. Exp. Biol. Med. – 2011. – Vol. 150. – P. 327–332.

100. Щулькин А.В. Современные представления об антигипоксическом и антиоксидантном эффектах мексидола / А.В. Щулькин // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2018. –Т. 118, № 12-2. – С. 87-93

101. Громова О.А. Опыт применения мексидола в неврологической практике / О.А. Громова, И.Ю. Торшин, Л.В. Стаховская, Е.Г. Пепеляев, В.А. Семенов, А.Г. Назаренко // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2018. – Т. 118, № 10. - С. 97-107

102. Kolesnikova L.I. Oxidative Stress as a Mechanisms of Reduced Glucose Absorption under Conditions of Immobilization Stress / L.I. Kolesnikova, S.I. Kolesnikov, L.I. Korytov, M.I. Suslikova, M.A. Darenskaya, L.A. Grebenkina, L.R. Kolesnikova // Bull. Exp. Biol. Med. – 2017. – Vol. 164. – P. 132–135.

103. Щепанкевич Л.А. Эффективность и безопасность терапии лекарственными препаратами Мексидол и Мексидол ФОРТЕ 250 у пациентов с хронической ишемией головного мозга / Л.А. Щепанкевич, Ю.А. Николаев, Е.В. Танеева, М.А. Первунинская, М.С. Щепанкевич // Журнал неврологии и психиатрии им. С.С. Корсакова. – 2021. - Т. 121, № 10. - С. 32-37 104. Sinitskii A.I. Influence of 2-Ethyl-6-Methyl-3-Hydroxypyridine on the Functional State of Rat Liver Mitochondria *In Vitro* / A.I. Sinitskii, O.T. Kochkina, S.I. Grobovoi // Pharmaceutical Chemistry Journal. – 2021. - Vol. 55, № 1. – P. 6–10.

105. Becher J. Synthesis and Reactions of Glutaconaldehyde and 5-Amino-2,4-pentadienals / J. Becher // Synthesis. – 1980. – Vol. 8. – P. 589-612.

106. Schmidt G.M.J. Photodimerization in the solid state / G.M.J. Schmidt // Pure Appl. Chem. - 1971. - Vol. 27, Issue 4, P. 647-678.

107. Cohen M.D. Photochemie organischer Festkörper / M.D. Cohen // Angewandte Chemie. - 1975. – Vol. 87, Issue 12. – P. 439-447.

108. Gnanaguru K. A study on the photochemical dimerization of coumarins in the solid state / K. Gnanaguru, N. Ramasubbu, K. Venkatesan, V. Ramamurthy // J. Org. Chem. – 1985. – Vol. 50, Issue 13. – P. 2337-2346

109. Yang I. Photochemical generation of a new, highly fluorescent compound from non-fluorescent resveratrol / I. Yang, E. Kim, J. Kang, H. Han, S. Sul, S.B. Park, S.K. Kim // Chem. Commun. – 2012. – Vol. 48. – P. 3839-3841

110. Saifutiarova A.E. Highly regioselective and stereoselective photodimerization of azine-containing stilbenes in neat condition: An efficient synthesis of novel cyclobutanes with heterocyclic substituents / A.E. Saifutiarova, Y.V. Fedorov, F. Maurel, E.N. Gulakova, V.A. Karnoukhova, O.A. Fedorova // J. Photochem. Photobiol. A: Chem. - 2022. - Vol. 427. – 113804

111. Adib M. A One-Pot, Four-Component Synthesis of N-Substituted 2,4-Diarylimidazoles / M. Adib, S. Ansari, S. Feizi, J.A. Damavandi, Mirzaei P.// Synlett. – 2009. – Issue 20. – P. 3263–3266.

112. Chunavala K.C. Thermal and Microwave-Assisted Rapid Syntheses of Substituted Imidazo[1,2-*a*]pyridines Under Solvent- and Catalyst-Free Conditions / K.C. Chunavala, G. Joshi, E. Suresh, S. Adimurthy // Synthesis. – 2011. – Issue 4. – P. 635–641

113. Roppe J. Discovery of Novel Heteroarylazoles That Are Metabotropic Glutamate Subtype 5 Receptor Antagonists with Anxiolytic Activity / J. Roppe, N.

D. Smith, D. Huang, L. Tehrani, B. Wang, J. Anderson, J. Brodkin, J. Chung, X. Jiang, C. King, B. Munoz, M.A. Varney, P. Prasit, N.D.P. Cosford // J. Med. Chem. – 2004. – Vol. 47. – P. 4645-4648

114. Collman J.P. An Efficient Diamine Copper Complex-Catalyzed Coupling of Arylboronic Acids with Imidazoles / J.P. Collman, M. Zhong // Org. Lett. – 2000. – Vol. 2, Issue 9. – P. 1233–1236.

115. Likhar P.R. Silica immobilized copper complexes: Efficient and reusable catalysts for *N*-arylation of N(H)-heterocycles and benzyl amines with aryl halides and arylboronic acids / P.R. Likhar, S. Roy, M. Roy, M.L. Kantam, R.L. De // J. Mol. Catal. A: Chem. – 2007. – Vol. 271, Issue 1-2. – P. 57–62.

116. Collman J.P. The [Cu(OH)TMEDA]<sub>2</sub>Cl<sub>2</sub>-Catalyzed Coupling of Arylboronic Acids with Imidazoles in Water / J.P. Collman, M. Zhong, L. Zeng, S. Costanzo // J. Org. Chem. – 2001. – Vol. 66, Issue 4. – P. 1528–1531.

117. Collman J.P. Catalytic Activities of Cu(II) Complexes with Nitrogen-Chelating Bidentate Ligands in the Coupling of Imidazoles with Arylboronic Acids / J.P. Collman, M. Zhong, C. Zhang, S. Costanzo // J. Org. Chem. – 2001. – Vol. 66, Issue 23. – P. 7892–7897.

118. Lan J.-B. A simple copper salt catalysed the coupling of imidazole with arylboronic acids in protic solvent / J.-B. Lan, L. Chen, X.-Q. Yu, R.-G. Xie // Chem. Commun. – 2004. – Issue 2. – P. 188–189.

119. Liu B. Copper(II) Hydroxide Complexes of N-Heterocyclic Carbenes and Catalytic Oxidative Amination of Arylboronic Acids / B. Liu, B. Liu, Y. Zhou, W. Chen // Organometallics. – 2010. – Vol. 29, Issue 6. – P. 1457–1464

120. Tromp M. Multitechnique Approach to Reveal the Mechanism of Copper(II)-Catalyzed Arylation Reactions / M. Tromp, G.P.F. Van Strijdonck, S.S. Van Berkel, A. van den Hoogenband, M.C. Feiters, B. de Bruin, S.G. Fiddy, A.M.J. van der Eerden, J.A. van Bokhoven, P.W.N.M. van Leeuwen, D.C. Koningsberger // Organometallics. – 2010. – Vol. 29, № 14. – P. 3085–3097. 121. Chan D.M.T. Copper promoted C-N and C-O bond cross-coupling with phenyl and pyridylboronates / [D.M.T. Chan, K.L. Monaco, R. Li et al.] // Tetrahedron Lett. -2003. - Vol. 44, No 19. - P. 3863-3865.

122. Zheng Z.-G. N-Arylation of amines, amides, imides and sulfonamides with arylboroxines catalyzed by simple copper salt/EtOH system / Z.-G. Zheng, J. Wen, N. Wang. B. Wu, X.-Q. Yu // Beilstein J. Org. Chem. – 2008. – Vol. 4. – P. 40–45.

123. Joubert N. Mild, base-free coppercatalyzed N-arylations of heterocycles using potassium aryltrifluoroborates in water under air / N. Joubert, E. Baslé, M. Vaultier, M. Pucheault // Tetrahedron Lett. – 2010. – Vol. 51, № 22. – P. 2994–2997

124. Taha M. Synthesis of 2-phenyl-1*H*-imidazo[4,5-*b*]pyridine as type 2 diabetes inhibitors and molecular docking studies / M. Taha, N.H. Ismail, S. Imran, I. Ainaa, M. Selvaraj, M.S. Baharudin, M. Ali, K.M. Khan, N. Uddin // Med. Chem. Res. – 2017. – Vol. 26. – P. 916–928.

125. da Costa P.S. Pro-Oxidant Effect of Resveratrol on Human Breast Cancer MCF-7 Cells is Associated with CK2 Inhibition / da Costa P.S., P.S. Ramos, C. Ferreira, J.L. Silva, T. El-Bacha, E. Fialho // Nutrition and Cancer. - 2022. – Vol. 74, Issue 6. – P. 2142–2151.

126. Mosmann T. Rapid colorimetric assay for cellular growth and survival: application to proliferation and cytotoxicity assays / T. Mosmann // J. Immunol. Methods. – 1983. – Vol. 65, Issues 1–2. – P. 55–63

127. Munteanu I.G. Analytical Methods Used in Determining Antioxidant Activity: A Review / I.G. Munteanu, C. Apetrei // Int. J. Mol. Sci. – 2021. – Vol. 22. – P. 3380-3409.

128. Меньщикова Е.Б. Фенольные антиоксиданты в биологии и медицине. Строение, свойства, механизмы действия / Е.Б. Меньщикова, В.З. Ланкин, Н.В. Кандалинцева – Saarbrücken: LAP LAMBERT, 2012. – 496 с. 129. Roginsky V. Chain-breaking antioxidant capability of some beverages as determined by the Clark electrode technique / V. Roginsky, T. Barsukova // Journal of Medicinal Food. – 2001. – Vol. 4, Issue 4. – P. 219–229

130. Elimadi A. Dose-related inversion of cinnarizine and flunarizine effects on mitochondrial permeability transition / A. Elimadi, L. Bouillot, R. Sapena, J.P. Tillement, D. Morin // Eur. J. Pharmacol. - 1998. – Vol. 348. – P. 115-121.

131. Функциональная биоэнергетика и механизмы старения организма человека / А.В. Панов, Н. М. Жолобак; под ред. С. И. Колесникова. - Москва : ГЭОТАР-Медиа, 2023. - 512 с.

132. He F. Bradford protein assay / F. He // Bio-Protocol. - 2011. – Vol. 1, Issue 6. - e45

133. Devasagayam T.P.A. Differences in lipid peroxidation of rat liver rough and smooth microsomes / T.P.A. Devasagayam, C.K. Pushpendran, J. Eapen // Biochim. Biophys. Acta. - 1983. – Vol. 750. – P. 91–97

134. Fauconneau B. Comparative study of radical scavenger and antioxidant properties of phenolic compounds from *Vitis vinifera* cell cultures using *in vitro* tests / B. Fauconneau, P. Waffo-Teguo, F. Huguet, L. Barrier, A. Decendit, J.-M. Merillon // Life Sciences. – 1997. - Vol. 61, Issue 21. – P. 2103-2110

135. Houtkooper R.H. Mitonuclear protein imbalance as a conserved longevity mechanism / R.H. Houtkooper, L. Mouchiroud, D. Ryu, N. Moullan, E. Katsyuba, G. Knott, R.W. Williams, J. Auwerx // Nature. - 2013. – Vol. 497. – P. 451-457

136. Andjelkovi'c M. Iron-chelation properties of phenolic acids bearing catechol and galloyl groups / M. Andjelkovi'c, J.V. Camp, B. De Meulenaer, G. Depaemelaere, C. Socaciu, M. Verloo, R. Verhe // Food Chem. – 2006. – Vol. 98. – P. 23–31

137. Fernandez M.T. Iron and copper chelation by flavonoids: An electrospray mass spectrometry study / M.T. Fernandez, M.L. Mira, M.H. Florêncio, K.R. Jennings // J. Inorg. Biochem. – 2002. – Vol. 92. – P. 105–111

138. Mlad<sup>\*</sup>enka P. In vitro analysis of iron chelating activity of flavonoids /
P. Mlad<sup>\*</sup>enka, K. Macáková, T. Filipský, L. Zatloukalová, L. Jahodá<sup>\*</sup>r, P. Bovicelli, I.P. Silvestri, R. Hrdina, L. Saso // J. Inorg. Biochem. – 2011. – Vol. 105. – P.
693–701

139. Chan S. Metal chelation, radical scavenging and inhibition of  $A\beta_{42}$  fibrillation by food constituents in relation to Alzheimer's disease / S. Chan, S. Kantham, V.M. Rao, M.K. Palanivelu, H.L. Pham, P.N. Shaw, R.P. McGeary, B.P. Ross // Food Chemistry. – 2016. - Vol. 199. – P. 185-194

140. Thephinlap C. Epigallocatechin-3-gallate and Epicatechin-3-gallate from Green Tea Decrease Plasma Non-Transferrin Bound Iron and Erythrocyte Oxidative Stress / C. Thephinlap, S. Ounjaijean, U. Khansuwan, S. Fucharoen, J. Porter, S. Srichairatanakool // Medicinal Chemistry. – 2007. –Vol. 3, Issue 3. – P. 289–296.

141. Ferrali M. Protection against oxidative damage of erythrocyte membrane by the flavonoid quercetin and its relation to iron chelating activity / M. Ferrali, C. Signorini, B. Caciotti, L. Sugherini, L. Ciccoli, D. Giachetti, M. Comporti // FEBS Letters. - 1997. – Vol. 416, Issue2. – P. 123-129

142. Perron N.R. Predicting How Polyphenol Antioxidants Prevent DNA Damage by Binding to Iron / N.R. Perron, J.N. Hodges, M. Jenkins, J.L. Brumaghim // Inorganic Chemistry. – 2008. - Vol. 47, Issue. 14. – P. 6153-6161

143. Kitsati N. Lipophilic Caffeic Acid Derivatives Protect Cells against H<sub>2</sub>O<sub>2</sub>-InducedDNA Damage by Chelating Intracellular Labile Iron / N. Kitsati, D. Fokas, M.-D. Ouzouni, M.D. Mantzaris, A. Barbouti, D. Galaris // J. Agric. Food Chem. – 2012. – Vol. 60, Issue 32. – P. 7873–7879

144. Genaro-Mattos T.C. Antioxidant Activity of Caffeic Acid against Iron-Induced Free Radical Generation—A Chemical Approach / T.C. Genaro-Mattos, Â.Q. Maurício, D. Rettori, A. Alonso, M. Hermes-Lima // PLoS ONE. -2015. -Vol. 10, Issue 6. - e0129963.

145. Dalvi L.T. Ellagic acid inhibits iron-mediated free radical formation / L.T. Dalvi, D.C. Moreira, R. Andrade Jr., J. Ginani , A. Alonso, M. Hermes-Lima

// Spectrochimica Acta Part A: Molecular and Biomolecular Spectroscopy. – 2017.
– Vol. 173. – P. 910–917

146. Бек М. Исследование комплексообразования новейшими методами / М. Бек, И. Надьпал; пер. с англ. С. Л. Давыдовой. - Москва : Мир, 1989. - 411 с.

147. Dinis T.C.P. Action of Phenolic Derivatives (Acetaminophen, Salicylate, and 5-Aminosalicylate) as Inhibitors of Membrane Lipid Peroxidation and as Peroxyl Radical Scavengers / T.C.P. Dinis, V.M.C. Maderia, L.M. Almeida // Arch. Biochem. Biophys. - 1994. – Vol. 315, Issue 1. – P. 161–169

148. Haroutounian S.A. Hydroxystilbazoles and hydroxyazaphenanthrenes: photocyclization and fluorescence studies / S.A. Haroutounian, J.A. Katzenellenboge // Photochem. Photobiol. - 1988. – Vol. 47. – P. 503–516

149. Würth C. Relative and absolute determination of fluorescence quantum yields of transparent samples / C. Würth, M. Grabolle, J. Pauli, M. Spieles, U. Resch-Genger // Nat. Protoc. – 2013. - Vol. 8. – P. 1535–1550.

150. Brouwer A.M. Standards for photoluminescence quantum yield measurements in solution (IUPAC Technical Report) / A.M. Brouwer // Pure Appl. Chem. – 2011. - Vol. 83, Issue 12. - P. 2213–2228.

151. Ramasarma T. New insights of superoxide dismutase inhibition of pyrogallol autoxidation / T. Ramasarma, A.V.S. Rao, M.M. Devi, R.V. Omkumar, K.S. Bhagyashree, S.V. Bhat // Mol. Cell. Biochem. - 2015. – Vol. 400, Issue 1-2. – P. 277–285.

152. Kan Y. Boronate complex formation with Dopa containing mussel adhesive protein retards pH-induced oxidation and enables adhesion to mica / Y. Kan, E.W. Danner, J.N. Israelachvili, Y. Chen, J.H. Waite // PLoS One. - 2014. – 9. - e108869

153. Sheldrick G.M. SHELXT – Integrated space-group and crystalstructure determination / G.M. Sheldrick // Acta Cryst. Sect. A. – 2015. – Vol. 71. – P. 3–8.

154. Hübschle C.B. ShelXle: a Qt graphical user interface for SHELXL / C.B. Hübschle, G.M. Sheldrick, B. Dittrich // J. Appl. Cryst. – 2011. – Vol. 44. – P. 1281-1284.

155. Arndt F. Diazomethane / F. Arndt // Org. Synth. – 1935. – Vol. 15. – P.
3.

156. Patent US7566357B2. Method of producing fine – particle copper powders: applic. 14.03.2007; public. 28.07.2009./ G. Zhao. – 16p.

157. Mao D. Lewis-acid-catalyzed benzylic reactions of 2-methylazaarenes with aldehydes / D. Mao, G. Hong, S. Wu, X. Liu, J. Yu, L. Wang // Eur.J. Org. Chem. – 2014. – Vol. 2014. – P. 3009–3019

158. Choi H.J. Comparative syntheses of arylamine monomer with styrylpyridyl photo-crosslinker of polyarylamine for OLED hole-injection material / H.J. Choi, M.G. Song, Y.H. Sim, H.K. Bae, J.W. Kim, L.S. Park // Mol. Cryst. Liq. Cryst. –2010. - Vol. 531. – P. 347–354

159. Пожарский А.Ф. Практические работы по химии гетероциклов : учебное пособие / А. Ф. Пожарский, В. А. Анисимова, Е. Б. Цупак ; ред. Б. А. Тертов ; Ростовский государственный университет им. М.А. Суслова. – Ростов-на-Дону : Изд-во Ростовского ун-та, 1988. - 160 с.

160. Fox B.A. 2,3-Diaminopyridine / B.A. Fox, T.L. Threlfall // Org. Synth. - 1964. - Vol. 44. - P. 34

161. Wu Y. Directing Group Enables Electrochemical Selectively Meta-Bromination of Pyridines under Mild Conditions / Y. Wu , S. Xu, H. Wang, D. Shao, Q. Qi, Y. Lu, L. Ma, J. Zhou , W. Hu, W. Gao, J. Chen // J. Org. Chem. - 2021. — Vol. 86, Issue 22. — P. 16144–16150.

162. Fantasia S. Ligandless Copper-Catalyzed Coupling of Heteroaryl Bromides with Gaseous Ammonia / S. Fantasia, J. Windisch, M. Scalone // Adv. Synth. Cat. – 2013. – Vol.355, Issue4. - P. 627-631

163. Leeson P.D. Synthesis of thyroid hormone analogues. Part 1. Preparation of 3'heteroarylmethyl-3,5-di-iodo-L-thyronines via phenol–dinitrophenol condensation and relationships between structure and selective thyromimetic activity / P.D. Leeson, J.C. Emmett // J. Chem. Soc., Perkin Trans. 1. – 1988. - Issue 12. – P. 3085-3096.

164. Seton A.W. A Revised Synthesis of the Antitumour Antibiotic Lazatyrosine *via* 2-iodo-5-methoxypyridine / A.W. Seton, M.F.G. Stevens, A.D. Westwell // Journal of Chemical Research. – 2001. – Vol. 2001, Issue 12. – P. 546-548

165. Tomasik P. On some 3-phenylazopyridine derivatives / P. Tomasik // Roczniki Chem. – 1970. – Vol. 44, Issue 3. – P. 509-514

166. Sheldrake P.W. Preparation of 5-Hydroxy-2-iodopyridine: A Refutation of Earlier Reports / P.W. Sheldrake, L.C. Powling, P.K. Slaich // J. Org. Chem. – 1997. – Vol. 62. – P. 3008-3009

167. Roppe J. Discovery of Novel Heteroarylazoles That Are Metabotropic Glutamate Subtype 5 Receptor Antagonists with Anxiolytic Activity / J. Roppe, N.D. Smith, D. Huang, L. Tehrani, B. Wang, J. Anderson, J. Brodkin, J. Chung, X. Jiang, C. King, B. Munoz, M.A. Varney, P. Prasit, N.D. P. Cosford // J. Med. Chem. – 2004. – Vol. 47, Issue 19. – P. 4645–4648

168. Carroll F.I. Synthesis, Nicotinic Acetylcholine Receptor Binding, and Antinociceptive Properties of 2-*exo*-2-(2',3'-Disubstituted 5'-pyridinyl)-7azabicyclo[2.2.1]heptanes: Epibatidine Analogues / F.I. Carroll, J.R. Lee, H.A. Navarro, W. Ma, L.E. Brieaddy, P. Abraham, M. I. Damaj, B.R. Martin // J. Med. Chem. – 2002. – Vol. 45. – P. 4755-4761

169. Oguchi M. Molecular Design, Synthesis, and Hypoglycemic Activity of
a Series of Thiazolidine-2,4-diones / M. Oguchi, K. Wada, H. Honma, A. Tanaka,
T. Kaneko, S. Sakakibara, J.Ohsumi, N. Serizawa, T. Fujiwara, H. Horikoshi, T.
Fujita // J. Med. Chem. — 2000. — Vol. 43, Issue 16. — P. 3052–3066

170. Patent US6538010B1. Compounds and methods for promoting smoking cessation: applic. 08.11.2000, public. 25. 03.2003 / F. Ivy Carroll. — 51p. Приложение А



## Распределение спиновой плотности в радикальных частицах







## Приложение Б

Атом	Х	у	Z	Ueq, Å <sup>2</sup>
C1	0.50835(19)	0.6035(5)	0.3190(3)	0.0171(8)
C2	0.46089(19)	0.6878(4)	0.3693(3)	0.0170(8)
C3	0.40828(18)	0.7241(5)	0.3009(3)	0.0169(8)
C4	0.40216(19)	0.6720(5)	0.1768(4)	0.0185(9)
C5	0.4470(2)	0.5796(5)	0.1290(4)	0.0200(9)
C6	0.5000(2)	0.5471(5)	0.1978(4)	0.0195(9)
C7	0.56619(19)	0.5739(5)	0.3872(4)	0.0178(9)
C8	0.58413(19)	0.6379(5)	0.4942(4)	0.0193(9)
С9	0.64062(19)	0.6063(5)	0.5650(4)	0.0177(9)
C10	0.64788(19)	0.6486(5)	0.6902(4)	0.0203(9)
C11	0.69934(19)	0.6072(5)	0.7583(4)	0.0198(9)
C12	0.74647(19)	0.5204(5)	0.7053(3)	0.0176(8)
C13	0.73831(18)	0.4865(5)	0.5771(4)	0.0201(9)
H2	0.464664	0.721703	0.453437	0.020
H5	0.441383	0.537830	0.048018	0.024
H6	0.531036	0.485977	0.162423	0.023
H7	0.593332	0.503056	0.352464	0.021
H8	0.557506	0.710855	0.527097	0.023
H10	0.616826	0.706771	0.729037	0.024
H11	0.703213	0.637911	0.843317	0.024
H13	0.769587	0.432205	0.534930	0.024
H14	0.3393(16)	0.845(5)	0.303(3)	0.032
H15	0.3564(17)	0.702(6)	0.0316(17)	0.034
H16	0.8046(19)	0.522(5)	0.834(3)	0.034
N1	0.68741(15)	0.5288(4)	0.5124(3)	0.0182(8)
01	0.36440(14)	0.8083(3)	0.3557(3)	0.0215(7)
02	0.35081(14)	0.7139(4)	0.1107(3)	0.0227(7)
03	0.79524(14)	0.4747(4)	0.7664(3)	0.0229(7)

Таблица Б1. Координаты атомов для C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub> (1в)

Таблица Б2. Значения тепловых параметров для C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub> (1в)

r						•
Атом	$U_{11}, Å^2$	$U_{22}, Å^2$	$U_{33}, Å^2$	$U_{12}, Å^2$	$U_{13}$ , Å <sup>2</sup>	$U_{23}, Å^2$
C1	0.026(2)	0.020(2)	0.0059(17)	0.0008(16)	-0.0004(15)	0.0025(16)
C2	0.027(2)	0.021(2)	0.0029(16)	0.0008(16)	-0.0012(15)	0.0014(15)
C3	0.023(2)	0.021(2)	0.0062(17)	0.0001(16)	-0.0002(14)	0.0035(16)
C4	0.024(2)	0.023(2)	0.0085(18)	0.0004(16)	-0.0048(15)	-0.0012(16)
C5	0.035(2)	0.019(2)	0.0063(17)	0.0010(18)	-0.0035(16)	-0.0023(16)
C6	0.029(2)	0.020(2)	0.0091(18)	0.0030(17)	0.0003(16)	0.0009(16)
C7	0.024(2)	0.021(2)	0.0079(17)	0.0035(16)	0.0013(15)	0.0025(16)
C8	0.025(2)	0.022(2)	0.0114(18)	0.0035(16)	-0.0006(15)	-0.0026(17)

C9	0.025(2)	0.021(2)	0.0077(17)	0.0017(17)	-0.0008(15)	0.0022(16)
C10	0.025(2)	0.025(2)	0.0108(18)	0.0030(17)	0.0011(16)	-0.0014(17)
C11	0.030(2)	0.027(2)	0.0029(17)	0.0007(18)	-0.0011(15)	-0.0016(16)
C12	0.0225(19)	0.024(2)	0.0066(16)	-0.0012(17)	-0.0005(15)	-0.0024(16)
C13	0.020(2)	0.032(2)	0.0082(17)	0.0038(17)	0.0006(15)	0.0006(17)
N1	0.0210(17)	0.028(2)	0.0057(15)	0.0024(14)	-0.0015(13)	0.0001(14)
01	0.0274(15)	0.0315(16)	0.0055(12)	0.0076(12)	-0.0015(11)	0.0006(12)
O2	0.0274(15)	0.0326(17)	0.0080(12)	0.0037(12)	-0.0051(11)	-0.0022(12)
03	0.0257(14)	0.0355(18)	0.0075(13)	0.0071(13)	-0.0044(11)	-0.0073(12)

**Таблица Б3.** Межатомные расстояния для C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub> (**1**в)

Атомы	Расстояние,	Атомы	Расстояние,	Атомы	Расстояние,
	Å		Å		Å
C3 – O1	1.353(5)	C9 – N1	1.354(5)	C4 - O2	1.362(5)
C3 – C2	1.384(5)	C9 – C10	1.395(5)	C4 - C5	1.383(6)
C3 – C4	1.409(5)	C9 – C8	1.457(5)	N1 – C13	1.349(5)
C12 – O3	1.302(5)	C1 – C2	1.389(6)	C5 - C6	1.386(6)
C12 – C13	1.407(5)	C1 - C6	1.399(5)	C7 - C8	1.337(6)
C12 – C11	1.408(6)	C1 - C7	1.463(5)	C10-C11	1.374(6)

**Таблица Б4.** Валентные углы для C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub> (**1**в)

Атомы	Угол, °	Атомы	Угол, °	Атомы	Угол, °
C2 - C1 - C6	117.9(4)	O2 - C4 - C5	123.3(3)	C3 - C2 - C1	122.2(4)
C6 - C1 - C7	119.6(4)	N1 - C9 - C10	117.3(4)	C4 - C5 - C6	120.8(4)
C2 - C1 - C7	122.5(4)	N1 - C9 - C8	120.7(4)	C5 - C6 - C1	120.6(4)
O1 - C3 - C2	118.8(3)	C10 - C9 - C8	122.0(4)	C8 - C7 - C1	125.6(4)
C2 - C3 - C4	119.0(4)	C13 - C12 - C11	115.1(4)	C7 - C8 - C9	126.2(4)
O1 - C3 - C4	122.2(3)	O3 - C12 - C13	120.7(4)	C11 - C10 - C9	120.9(4)
O2 - C4 - C3	117.4(4)	O3 - C12 - C11	124.2(3)	C10 - C11 - C12	121.7(4)
C5 - C4 - C3	119.2(4)	C13 - N1 - C9	123.0(3)	N1 - C13 - C12	122.0(4)

Таблица Б5. Параметры водородных связей для C<sub>13</sub>H<sub>11</sub>NO<sub>3</sub>(1в)

Атомы	D-H, Å	H … A, Å	D … A, Å	$D-H \cdots A$ , °
$O1 - H14 \cdots O3^{(I)}$	0.846(19)	1.70(2)	2.499(4)	157(5)
$O3 - H16 \cdots N1^{(II)}$	0.858(19)	1.91(3)	2.685(4)	150(5)
$O2 - H15 \cdots O1^{(III)}$	0.856(19)	1.878(19)	2.731(4)	175(4)
$C13 - H13 \cdots O1^{(IV)}$	0.95	2.61	3.247(5)	125.0