Т. В. Московкина^{1*}, А. И. Калиновский², Е. А. Мартыяс², М. М. Анисимов²

СИНТЕЗ И СВОЙСТВА 6,6-ДИ(ИНДОЛ-3-ИЛ)ИНДОЛО[2,1-*b*]ХИНАЗОЛИН-12(6*H*)-ОНА И ЕГО 2,8-ДИМЕТИЛ- И 2,8-ДИБРОМПРОИЗВОДНЫХ

Конденсацией триптантрина и его 2,8-диметил- и 2,8-дибромпроизводных с индолом получены ранее неизвестные 6,6-ди(индол-3-ил)индоло[2,1-*b*]хиназолин-12(6*H*)оны. Показано, что 2,8-дизамещённые триптантрины, а также 6,6-ди(индол-3-ил)индоло[2,1-*b*]хиназолин-12(6*H*)-он проявляют ингибирующее действие в отношении *Candida albicans* KMM 455. Установлено, что растворы как самого триптантрина, так и его 6,6-дииндолильного производного флуоресцируют: при поглощении света с длиной волны 434 и 340 нм они дают в спектрах флуоресценции максимумы при λ_{max} 525 и 500 нм соответственно.

Ключевые слова: индол, индоло[2,1-*b*]хиназолины, конденсация, противомикробное действие, флуоресценция.

Триптантрин (коуропитин) или индоло[2,1-*b*]хиназолин-6,12-дион (1а) – алкалоид, выделенный из растений, дрожжеподобных грибов и морских бактерий [1–5], известен своей противогрибковой [2, 3] и противовоспалительной активностью [6], ингибирует рост туберкулёзной бактерии *Мусоbacterium tuberculosis* [7] и простейших *Trypanosoma brucei* и *Leishmania donovani* [8, 9], подавляет некоторые злокачественные образования, демонстрирует иммуностимулирующий эффект [10] и другие интересные биологические свойства [11–14]. Биологически активны и его композиции с природными полисахаридами [15–17].

В литературе сообщалось о синтезах этого соединения и его производных [18–20], в том числе и разработанных первым из авторов этой статьи [19, 20]. Химические свойства самого триптантрина активно не изучались, хотя многочисленные синтезы его новых производных постоянно осуществляются с целью поиска и создания новых перспективных биоактивных соединений.

Ди(индол-3-ил)метан и его производные также известны как алкалоиды наземного и морского происхождения, проявляющие противомикробные свойства и другую биологическую активность [21–23]. Их обычно синтезируют конденсацией индола с альдегидами [24–27].

Мы полагали, что эта реакция может протекать и по карбонильной группе пятичленного цикла триптантрина. Подобных превращений до настоящего времени не было описано. С целью получения триптантринсодержащих ди-(индол-3-ил)метанов нами изучена конденсация индола с триптантрином (1а) и его производными 1b,c [20].

В рамках модифицированной экспериментальной методики [27] триптантрин (1а), его 2,8-диметил- и 2,8-дибромпроизводные 1b,с и индол, взятые в мольном соотношении 1:2, нагревали в присутствии трибромида тетрабутиламмония (ТБАТБ, ТВАТВ) в качестве катализатора в смеси абсолютных растворителей EtOH–диоксан, 3:1, при 60–70 °C в течение 7–8 ч. По данным авторов работы [27], ТБАТБ является эффективным катализатором образования ди(индол-3-ил)метанов при конденсации различных альдегидов и индолов. Эти же авторы привели схему реакции и обосновали выбор этанола в качестве растворителя.

Действительно, в результате реакции мы получили 6,6-ди(индол-3-ил)индоло[2,1-*b*]хиназолин-12(6*H*)-оны $2\mathbf{a}-\mathbf{c}$ с выходами 30–40% в виде бесцветных кристаллов в отличие от триптантринов $1\mathbf{a}-\mathbf{c}$, имеющих канареечный цвет.



 $\mathbf{a} \mathbf{R} = \mathbf{H}, \mathbf{b} \mathbf{R} = \mathbf{M}\mathbf{e}, \mathbf{c} \mathbf{R} = \mathbf{B}\mathbf{r}$

Структура продуктов реакции установлена спектральными методами. В масс-спектрах соединений **2a**,**b** имеются пики молекулярных ионов $[M]^+$ с *m/z* 464 и 492 соответственно, а в масс-спектре соединения **2c** – пики иона $[M+H]^+$ с *m/z* 621, 623 и 625 с соотношением интенсивностей 1:2:1, характерным для двух атомов брома, которые свидетельствуют о присоединении двух индолильных фрагментов к соответствующим триптантринам **1a**–c. В ИК спектрах соединений **2a**–c отсутствует полоса поглощения при 1730– 1735 см⁻¹ (6-C=O), но наблюдается интенсивная полоса при 3470–3480 см⁻¹ (N–H индола).

Спектры ЯМР ¹H, ¹³C, ¹⁵N и 2D ЯМР эксперименты убедительно подтвердили строение полученных соединений. Так, спектр ЯМР ¹H соединения **2a** в CD₃OD содержит сигналы протонов четырёх *о*-дизамещённых бензольных циклов и синглетный сигнал H-2',2" в индольных фрагментах (6.95 м. д.). В спектре ЯМР ¹³C (CD₃OD) сигнал карбонильной группы в пиримидиновом цикле проявляется при 162.0 м. д., а сигнал C=N – при 164.5 м. д. Сигнал атома C-6 оказался перекрытым сигналами растворителя.

Отнесение всех сигналов в спектрах ЯМР соединения **2b** (CDCl₃), выполненное с помощью DEPT, COSY, HSQC и HMBC экспериментов, подтвердило наличие в нём 2 метильных групп, 16 групп =CH–, 10 групп =C<, N=C-группы, амидного карбонила 12-C=O и четырёхзамещённого углерода в sp^3 -гибридном состоянии. HMBC спектр с регистрацией сигналов ядер азота ¹⁵N указывает на наличие атомов азота индольных фрагментов (δ_N 124.5 м. д.), амидного азота (δ_N 177.3 м. д.) и азота N=C (δ_N 239.6 м. д.), сигналы которых были отнесены по кросс-пикам: 7.21/124.4 м. д. (H-7',7"/N индольного фрагмента), 6.84/124.4 м. д. (H-2',2"/N индольного фрагмента), 8.57/177 м. д. (H-10/амидный N) и 7.45/239.6 м. д.) определили по HMBC кросс-пикам 7.18/53.3 м. д. (H-7/C-6) и 6.84/53.3 м. д. (H-2',2"/C-6), которые подтверждают присоединение индольных фрагментов к атому C-6 (рисунок).



Ключевые ¹H/¹³C и ¹H/¹⁵N корреляции в НМВС спектрах соединения **2b**

Спектр ЯМР ¹Н соединения **2c** (CDCl₃) также подтверждает его структуру и отличается от спектра соединения **2b** главным образом химическими сдвигами сигналов и отсутствием сигналов метильных групп.

Противомикробные свойства растворов полученных соединений в ДМСО определяли методом измерения зон ингибирования роста микроорганизмов в стандартных агаризованных средах на трёх тест-культурах: грамположительные бактерии *Staphilococcus aureus* ANCC 21027, грамотрицательные бактерии *Escherichia coli* K-12 CL 588 (ВКПМ В-7935) и дрожжеподобные грибки *Candida albicans* KMM 455. Для сравнения использовали триптантрин (**1a**) и его 2,8-диметилпроизводное **1b**. В контрольных опытах использовали ДМСО (отрицательный контроль), положительный контроль – нитрофунгин в ДМСО.

Результаты тестирования показали, что из полученных соединений только соединение **2a** проявляет умеренную противогрибковую активность в отношении *C. albicans* (в концентрации 100 мкг/лунку; зона ингибирования 3.1 мм против 8 мм для самого триптантрина, 4 мм для диметилтриптантрина и 7 мм для нитрофунгина). В то же время соединение **2a** не проявляло противомикробной активности, в частности не ингибировало рост бактерий *S. aureus* и *E. coli*, в отличие от соединений **1a,b**, активных против *S. aureus* (зоны ингибирования 15 и 5.5 мм соответственно при концентрации 10 мкг/лунку).

Анализ УФ спектров триптантрина **1a** и триптантринового ди(индолил)метана **2a** в этаноле показал, что максимумы поглощения в УФ спектре соединения **2a** наблюдаются в более коротковолновой области (222, 268, 281, 290, 316 и 331 нм), чем в спектре триптантрина. Для сравнения: спектр раствора триптантрина **1a** имеет максимумы поглощения при 227, 246, 251, 268, 278, 311, 329, 348 и 391 нм.

Насколько нам известно, спектры флуоресценции самого триптантрина, а тем более его дииндолильных производных, ранее не исследовались. Мы изучили флуоресцентные спектры возбуждения соединений **1a** и **2a**. При облучении (λ 434 нм) раствор соединения **1a** флуоресцирует с максимумом эмиссии λ_{max} 525 нм. Известно, что некоторые гетероциклические соединения с флуоресцентными свойствами, в особенности те из них, которые обладают биологической активностью, используют в качестве флуоресцентных агентов для изучения различных клеточных процессов (апоптоз, активация лизосом и др.). Следовательно при изучении биологического действия триптантрина (**1a**) на различные клетки вполне могут использоваться его флуоресцентные свойства. Ди(индол-3-ил)производное **2a** даёт максимум эмиссии при 500 нм в аналогичных условиях (возбуждение λ 340 нм). Таким образом, получены новые соединения в ряду триптантринового ди(индолил)метана (6,6-ди(индол-3-ил)индоло[2,1-*b*]хиназолин-12(6*H*)-она) и показано, что незамещённый триптантриновый ди(индолил)метан проявляет умеренную противогрибковую активность, а также флуоресцентные свойства.

ЭСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

ИК спектры записаны на спектрофотометре Spectr BX-II FT-IR System (Perkin Elmer) в хлороформе. Спектры ЯМР ¹H, ¹³C и ¹⁵N зарегистрированы на спектрометре Bruker Avance III-700 (700, 176 и 71 МГц соответственно), внутренний стандарт ТМС, для измерения химических сдвигов азота внешний стандарт – нитрометан (380.2 м. д.). Масс-спектры соединений **2a,b** записаны на приборе AMD-604S с прямым вводом образца в ионный источник, ЭИ (70 эВ), а соединения **2c** – на приборе Bruker Ultraflex III/TOF/TOF, ионизация методом MALDI, матрица 2,5-дигидрокси-бензойная кислота. УФ спектры зарегистрированы на спектрофотометре UV-1601-PC (Shimadzu), а спектры флуоресценции – на спектрофлуориметре RF-5301-PC (Shimadzu) для растворов в этаноле. Для выделения целевых соединений из реакционных смесей использовали препаративную TCX на пластинах с силикагелем. Примеси отделили в системе гексан–EtOAc, 20:7, вещества потом элюировали с пластинок хлороформом. Температуры плавления определены на столике Boetius.

При изучении противомикробного действия для культивирования грибков использовали твёрдую питательную среду Сабуро, содержащую 3% глюкозы, 1% пептона и 1.7% агарозы (pH 6.0). Для культивирования бактерий использовали стандартную среду, состоящую из 0.1% глюкозы, 0.5% пептона, 0.1% дрожжевого экстракта, 0.02% К₂HPO₄, 0.01% NaOH, 0.005% MgSO₄ и 1.7% агарозы. После автоклавирования среды охлаждали, разливали в стерильные чашки Петри (диаметр 90 мм) по 25 мл в каждую. Суспензии микроорганизмов наносили на поверхность среды в количестве 200 мкл и растирали шпателем. В сделанные лунки (диаметр 10 мм) вносили растворы разных концентраций тестируемых веществ в ДМСО по 100 мкл в каждую. Чашки инкубировали в течение 1 сут при 37 °C для бактерий и 28 °C для дрожжеподобных грибков. Измеряли зоны ингибирования роста микроорганизмов от края лунки.

Синтез соединений 2а-с (общая методика). Смесь 0.5 ммоль индоло[2,1-*b*]хиназолин-6,12-диона 1а-с [20] и 117 мг (1 ммоль) индола растворяют в 20 мл смеси абсолютных растворителей EtOH-диоксан, 3:1, с добавкой 40 мг (0.083 ммоль) ТБАТБ, перемешивают в течение 7-8 ч при 60-70 °С. Растворитель отгоняют и к остатку добавляют 10 мл воды и 20 мл этилацетата. Органический слой отделяют и промывают водой, сушат над Na₂SO₄, растворитель удаляют в вакууме. Из остатка с помощью препаративной TCX выделяют соединения 2а-с.

6,6-Ди(индол-3-ил)индоло[2,1-b]хиназолин-12(6H)-он (2а). Выход 30%, т. пл. 218–220 °С (ЕtOH). ИК спектр, v, см⁻¹: 3477 (NH), 3043 (CH Ar), 1681 (С=О), 1636, 1600, 1464, 1417, 1354. УФ спектр, λ_{max} , нм (lg ε): 222 (4.2), 268 (3.1), 281 (2.8), 290 (3.05), 316 (3.0), 331 (2.9). Спектр ЯМР ¹H (CD₃OD), δ , м. д. (*J*, Гп): 6.78 (2H, т, *J* = 7.6, H-5',5"); 6.95 (2H, с, H-2',2"); 7.02 (2H, т, *J* = 7.6, H-6',6"); 7.20 (2H, д, *J* = 8.1, H-7',7"); 7.32 (1H, т, *J* = 7.5, H-3); 7.33 (2H, д, *J* = 8.2, H-4',4"); 7.50–7.52 (3H, м, H-2,4,9); 7.63 (1H, д, *J* = 8.1, H-7); 7.73 (1H, т. д, *J* = 6.8, *J* = 2.6, H-8); 8.36 (1H, д, *J* = 6.8, H-10); 8.71 (1H, д, *J* = 7.2, H-1). Спектр ЯМР ¹³С (CD₃OD), δ , м. д.: 112.5 (C-7',7"); 116.3 (C-3',3"); 118.0 (C-1); 119.7 (C-5',5"); 121.9 (C-4',4"); 122.2 (C-10a); 122.5 (C-6',6"); 126.1 (C-2',2"); 126.8 (C-4); 127.0 (C-3a',3a"); 127.4 (C-10); 127.8 (C-3); 128.0 (C-9); 128.6 (C-7); 129.6 (C-2); 135.7 (C-8); 138.4 (C-4a); 138.9 (C-7a',7a"); 139.9 (C-12a); 148.9 (C-6a); 161.9 (C-12); 164.5 (C-5a). Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн}, %): 464 [M]⁺ (100), 436 [M–CO]⁺ (1), 348 [M–C₈H₆N]⁺ (12), 232 [M–2C₈H₆N]⁺ (14). Найдено, *m/z*: 464.1600 [M]⁺. C₃₁H₂₀N₄O. Вычислено, *m/z*: 464.1637.

6,6-Ди(индол-3-ил)-2,8-диметилиндоло[2,1-b]хиназолин-12(6H)-он (2b). Выход 40%, т. пл. 240–242 °С. ИК спектр, v, см⁻¹: 3473 (NH), 3043 (CH Ar), 1683 (C=O), 1635, 1487, 1345, 1314, 834. Спектр ЯМР ¹Н (CDCl₃), δ, м. д. (*J*, Гц): 2.22 (3H, с, 8-CH₃); 2.39 (3H, с, 2-CH₃); 6.82 (2H, т, *J* = 7.7, H-5',5"); 6.84 (2H, д, *J* = 0.7, H-2',2"); 7.01 (2H, т, *J* = 7.4, H-6',6"); 7.18–7.21 (4H, м, H-7,9,7',7"); 7.27 (2H, д, *J* = 8.1, H-4',4"); 7.35 (1H, д. д, *J* = 2.1, *J* = 8.3, H-3); 7.45 (1H, д, *J* = 8.2, H-4); 8.05 (2H, уш. с, 2NH); 8.12 (1H, уш. с, H-1); 8.58 (1H, д, *J* = 8.8, H-10). Спектр ЯМР ¹³С (CDC1₃), δ, м. д.: 21.3 (2-CH₃); 21.5 (8-CH₃); 53.4 (C-6); 111.2 (C-7',7"); 116.5 (C-3',3"); 117.0 (C-10); 119.4 (C-5',5"); 121.0 (C-12a); 121.6 (C-4',4"); 122.0 (C-6',6"); 124.6 (C-2',2"); 125.7 (C-3a',3a"); 125.9 (C-9); 126.0 (C-1); 127.7 (C-4); 129.3 (C-7); 135.4 (C-3); 135.9 (C-6a); 136.4 (C-8); 136.6 (C-4a); 136.8 (C-2); 137.0 (C-7a',7a"); 145.4 (C-10a); 160.4 (C-12); 161.3 (C-5a). Масс спектр, *m/z* (*I*_{0тн}, %): 492 [M]⁺ (100), 376 [M–C₈H₆N]⁺ (12), 333 [M–C₈H₆N–CH₃–CO]⁺ (6), 260 [M–2C₈H₆N]⁺ (10). Найдено, *m/z*: 492.1980 [M]⁺. C₃₃H₂₄N₄O. Вычислено, *m/z*: 492.1950

2,8-Дибром-6,6-ди(индол-3-ил)индоло[2,1-b]хиназолин-12(6H)-он (2с). Выход 36%, т. пл. 300–304 °С. ИК спектр, v, см⁻¹: 3480 (NH), 3043 (CH Ar), 1680 (C=O), 1635, 1487, 1345, 1314, 834. Спектр ЯМР ¹Н (CDCl₃), δ, м. д. (*J*, Гц): 6.94 (2H, т, *J* = 7.6, H-5',5"); 6.95 (2H, с, H-2',2"); 7.15 (2H, т, *J* = 7.6, H-6',6"); 7.35 (2H, д, *J* = 8.1, H-4',4"); 7.37 (2H, д, *J* = 8.1, H-7',7"); 7.49 (1H, д, *J* = 8.7, H-4); 7.55 (1H, д, *J* = 2.0, H-7); 7.63 (1H, д. д, *J*₁ = 2.1, *J*₂ = 8.6, H-9); 7.73 (1H, д. д, *J* = 2.3, *J* = 8.7, H-3); 8.12 (2H, уш. с, 2NH); 8.52 (1H, д, *J* = 2.3, H-1); 8.64 (1H, д, *J* = 8.6, H-10). Масс-спектр, *m/z* (*I*_{отн}, %): 625 [M+H]⁺ (53) , 623 (100), 621 (47),. Найдено для изотопа ⁷⁹Br, *m/z*: 621.0720 [M+H]⁺. С₃₁H₁₉⁷⁹Br₂N₄O. Вычислено, *m/z*: 620.9926.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- 1. M. Brufani, W. Fedeli, F. Mazza, A. Gerhard, W. Keller-Schierlein, *Experientia*, 27, 1249 (1971).
- 2. F. Schindler, H. Zähner, Arch. Mikrobiol., 79, 187 (1971).
- 3. J. Bergman, B. Egestad, J.-O. Lindström, Tetrahedron Lett., 18, 2625 (1977).
- 4. G. Honda, V. Tosirisuk, M. Tabata, *Planta Med.*, **38**, 275 (1980).
- I. Wagner-Döbler, H. Rheims, A. Felske, A. El-Ghezal, D. Flade-Schröder, H. Laatsch, S. Lang, R. Pukall, B. J. Tindall, *Int. J. Syst. Evol. Microbiol.*, 54, 1177 (2004).
- M.-C. Recio, M. Cerdá-Nicolás, O. Potterat, M. Hamburger, J.-L. Ríos, *Planta Med.*, 72, 670 (2006).
- 7. L. A. Mitscher, W. R. Baker, Pure Appl. Chem., 70, 365 (1998).
- 8. J. Scovill, E. Blank, M. Konnick, E. Nenortas, T. Shapiro, Antimicrob. Agents Chemother., 46, 882 (2002).
- A. K. Bhattacharjee, D. L. Skanchy, B. Jennings, T. H. Hudson, J. J. Brendle, K. A. Werbovetz, *Bioorg. Med. Chem.*, 10, 1979 (2002).
- S. Koya-Miyata, T. Kimoto, M. J. Micallef, K. Hino, M. Taniguchi, S. Ushio, K. Iwaki, M. Ikeda, M. Kurimoto, *Anticancer Res.*, 21, 3295 (2001).
- 11. C.-W. Jao, W.-C. Lin, Y.-T. Wu, P.-L. Wu, J. Nat. Prod., 71, 1275 (2008).
- 12. H.-L. Chan, H.-Y. Yip, N.-K. Mak, K.-N. Leung, Cell. Mol. Immunol., 6, 335 (2009).
- T. Ishihara, K. Kohno, S. Ushio, K. Iwaki, M. Ikeda, M. Kurimoto, *Eur. J. Pharmacol.*, 407, 197 (2000).
- 14. S.-T. Yu, J.-W. Chern, T.-M. Chen, Y.-F. Chiu, H.-T. Chen, Y.-H. Chen, *Acta Pharmacol. Sin.*, **31**, 259 (2010).
- В. А. Стоник, А. М. Попов, Ю. М. Гафуров, Т. В. Московкина, В. А. Каминский, А. В. Качанов, О. Н. Кривошапко, С. Е. Петровичева, Пат. РФ 2366408.
- 16. А. М. Попов, Ю. М. Гафуров, Т. В. Московкина, А. В. Качанов, О. Н. Кривошапко, С. Е. Петровичева, В. А. Стоник, Докл. РАН, 426, 119 (2009).
- 17. А. М. Попов, О. И. Недашковская, Ю. М. Гафуров, Т. В. Московкина, *Биофарм. журн.*, **3**, № 3, 19 (2011).

- 18. A. D. Billimoria, M. P. Cava, Heterocycles, 42, 453 (1996).
- 19. Т. В. Московкина, Журн. орган. химии, 33, 138 (1997).
- 20. Т. В. Московкина, А. И. Калиновский, В. В. Маханьков, *Журн. орган. химии*, **48**, 128 (2012).
- 21. T. Osawa, M. Namiki, Tetrahedron Lett., 24, 4719 (1983).
- 22. G. Bifulco, I. Bruno, R. Riccio, J. Lavayre, G. Bourdy, J. Nat. Prod., 58, 1254 (1995).
- 23. T. R. Garbe, M. Kabayashi, N. Shimizu, N. Takesue, M. Ozawa, H. Yukawa, J. Nat. Prod., 63, 596 (2000).
- 24. B. P. Bandgar, K. A. Shaikh, Tetrahedron Lett., 44, 1959 (2003).
- 25. X. Mi, S. Luo, J. He, J.-P. Cheng, Tetrahedron Lett., 45, 4567 (2004).
- 26. L. Wang, J. Han, H. Tian, J. Sheng, Z. Fan, X. Tang, Synlett, 337 (2005).
- 27. S. K. Kundu, S. Islam, A. Hajra, A. Majee, Журн. орган. химии, 46, 125 (2010).

¹ Дальневосточный федеральный университет, ул. Октябрьская, 27, Владивосток 690000, Россия, e-mail: moskovkinataisiya@mail.ru

Поступило 25.01.2012 После переработки 27.01.2013

² Тихоокеанский институт биоорганической химии им. Г. Б. Елякова ДВО РАН, пр. 100 лет Владивостоку, 159, Владивосток 690022, Россия e-mail: eastnet@piboc.dvo.ru