

УДК 547.7:547.362:54.057

СИНТЕЗ НОВЫХ АНАЛОГОВ КОМБРЕТАСТАТИНА А-4 И ИЗУЧЕНИЕ ИХ ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНОЙ АКТИВНОСТИ

© 2015 г. М. П. Давыдова*, И. В. Сорокина**, Т. Г. Толстикова**, В. И. Маматюк*** ***,
Д. С. Фадеев**, С. Ф. Василевский*** ***,#

*Институт химической кинетики и горения им. В.В. Воеводского СО РАН,
630090, Новосибирск, ул. Институтская, 3

**Новосибирский институт органической химии им. Н. Н. Ворожцова СО РАН, Новосибирск

***Новосибирский государственный университет, Новосибирск

Поступила в редакцию 22.04.2014 г. Принята к печати 4.07.2014 г.

Предложен новый подход к синтезу аналогов природного комбретастина А-4, основанный на взаимодействии α -ацетиленовых кетонов с вторичными аминами (диэтиламином, пирролидином, пиперидином, морфолином). Получены неизвестные ранее аналоги комбретастина А-4 с β -аминовинилкарбонильными мостиками. На моделях экссудативного воспаления, вызванного гистамином и конканавалином А, изучены противовоспалительные и вазоактивные свойства полученных соединений.

Ключевые слова: комбретастин А-4, α -ацетиленовые кетоны, β -виниламины, противовоспалительная активность, вазоактивные свойства.

ВВЕДЕНИЕ

Синтетические модификации растительных метаболитов – актуальное направление в медицинской химии. Одно из перспективных соединений с противоопухолевой активностью — комбретастин А-4 (СА-4) — производное *цис*-стильбена, впервые выделенное 25 лет назад из южно-африканского дерева *Combretum caffrum* Петтитом и сотр. [1]. Благодаря простой молекулярной структуре и легкости синтеза аналогов, СА-4 в последние два десятилетия привлекает внимание синтетиков и фармакологов, что привело к появлению десятков эффективных агентов, родственных по строению этому комбретастатину [2–4].

Формула 1

Формула 1

По литературным данным [5], комбретастины связываются с колхициновым сайтом на β -субъединице α, β -гетеродимеров тубулина и ингибируют его полимеризацию в

Автор для связи (тел.: +7 (383) 333-33-47; факс: +7(383) 330-73-50; эл. почта: vasilev@kinetics.nsc.ru).

микротрубочках. Нарушение полимеризации тубулина вызывает повреждение веретена деления и подавление пролиферации опухолевых клеток, а также приводит к нарушениям в сигнальных путях, связанных с регуляцией и сохранением цитоскелета эндотелиальных клеток в сосудах опухоли. Эти данные стимулируют синтетические трансформации комбретастинов с целью поиска эффективных вазоактивных соединений, обладающих более селективным действием и менее токсичных

Обычно при трансформации СА-4 кольцо А (3,4,5-триметоксифенильный остаток) не затрагивается, а изменению подвергаются кольцо В (3-гидрокси-4-метоксифенильный остаток) или этиленовый мостик, причем установлено, что наиболее важным является модификация олефинового звена [2, 3]. Чаще всего она сводится к замене этиленового мостика на гетероциклический фрагмент или на мостик из трех атомов углерода. Следует отметить также введение функциональных групп в линкеры, соединяющие ароматические кольца, для повышения гидрофильности молекулы, поскольку одним из недостатков СА-4 и его аналогов является низкая растворимость в воде [2, 3, 6].

В предыдущей работе [7] мы сообщали о модификации СА-4 путем формирования гетероциклического мостика.

В настоящем сообщении представлены результаты синтеза аналогов СА-4 с трехуглеродным спейсером, несущим аминные функции, и дана оценка их противовоспалительной активности. Кроме этого определяли вазоактивные свойства соединений – по увеличению экссудативного отека лапы мышей, вызванного субпланарным введением гистамина или конканавалина А.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ИХ ОБСУЖДЕНИЕ

Целевыми аналогами СА-4 планировались β -аминовинилкетоны - 3-амино-3-Аг-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ен-1-оны (Аг – 4-метокси- или 4-нитрофенильный остаток) (схема, А).

Чтобы получить систематический ряд β -аминовинилкетонов, необходимый для фармакологического изучения, в качестве исходных ацетиленов были выбраны субстраты, несущие электронодонорную (метокси) и -акцепторную (нитро) группы в арилалкиновой части молекулы, а в качестве реагентов – диэтиламин, пирролидин, морфолин и пиперидин.

Кетоацетилены (IIIa), (IIIб) вводили в реакцию с диэтиламином и пирролидином в бензоле при 55°C и при кипячении, соответственно, а с морфолином и пиперидином в толуоле при кипячении. Присоединение аминов завершалось за 2–10 ч с образованием целевых аддуктов (IV) – (VII) с выходами 47–85%, причём в случае кетоацетилена (IIIб), активированного акцепторной нитрогруппой, взаимодействие ожидаемо протекало быстрее (схема, А, табл. 1).

схема

При попытке очистить нитропроизводные аминов (**Vб**) и (**VIб**) колоночной хроматографией на силикагеле, кроме целевых аминovinилкетонов, был обнаружен новый продукт – кетоспирт (**VIII**) (22 и 33% соответственно), который, по-видимому, — результат гидролиза соединений (**Vб**) и (**VIб**) на сорбенте (схема, Б). Следует отметить, что в литературе описан гидролиз β -аминovinилкетонов до соответствующих дикетонов, однако в более жестких условиях – кипячении (2 ч) спиртового раствора β -аминovinилкетонов с разбавленной HCl (1:1) [9].

Известно, что противоопухолевая активность комбретастатинов зависит от *Z/E* изомерии [2, 5, 6], поэтому специальное внимание мы уделили конфигурации синтезированных β -аминovinилкетонов, которую определяли в эксперименте NOESY. Для *E*-изомеров наблюдались отрицательные кросс-пики, указывающие на пространственную сближенность протона H2 с протонами H11, H15 и алифатическими протонами в α -положении заместителя. Для *Z*-изомеров характерны кросс-пики, соответствующие взаимодействию протона H2 с протонами H11, H15 и H5, H9. Кроме того, в случае соединений (**VIa**) и (**VIIa**) наблюдались положительные (сонаправленные с диагональными) кросс-пики, соответствующие химическому обмену между однопозиционными ядрами *E*- и *Z*-изомеров.

Следует отметить, что говорить об изомерной чистоте соединений на основании спектров ПМР нельзя. Данные ЯМР-спектров не отражают наличие или отсутствие стереоселективности процесса, т.к. в растворах, т.е. в условиях записи протонных спектров, может наблюдаться динамическое равновесие между *E*- и *Z*-изомерами. Действительно, в случае соединения (**VIIa**) мы специальным экспериментом показали, что равновесная концентрация *E*- и *Z*-изомеров зависит от растворителя и температуры. Соотношение изомеров в хлороформе составило 7 : 3, в DMSO – 81 : 19, при комнатной температуре. Также в DMSO наблюдалось уширение линий сигналов в протонных спектрах при нагревании в температурном диапазоне от 80 до 130°C ($k = 9.3 \text{ с}^{-1}$ при 91 °C).

Что касается, остальных соединений, их спектры ^1H -ЯМР были записаны в одинаковых условиях (хлороформ, комнатная температура), в которых мы наблюдали наличие только одного *E*-изомера. Исключением явилось соединение (**VIa**), в спектре которого зафиксировали смесь *E*- и *Z*-изомеров (7 : 3), см. табл.1.

Таким образом, предложен метод синтеза аналогов природного комбретастатина А-4, заключающийся во взаимодействии α -ацетиленовых кетонов с вторичными аминами

(диэтиламин, пирролидин, пиперидин, морфолин), приводящему к новым производным SA-4 с β -аминовинилкарбонильными мостиками.

Обнаружен побочный гидролиз на силикагеле β -аминовинилкетонов, несущих нитрогруппу, приводящий к образованию кетоспирта.

Противовоспалительные свойства аналогов комбретастина

По литературным данным, вазоактивные эффекты комбретастинов связаны в основном с полимеризацией тубулина и функциональным ингибированием комплекса VE-кадгерин/ β -катенин, что обуславливает изменение формы эндотелиальных клеток, нарушение их межклеточной адгезии и повышение проницаемости сосудистой стенки [2]. Эти особенности действия комбретастинов могут оказывать модифицирующее влияние на течение воспалительных процессов, в том числе усиливать экссудацию плазмы и миграцию клеток крови в окружающие ткани, в связи с чем увеличение воспалительного отека в ответ на введение комбретастинов на фоне других флогенов может свидетельствовать об их вазотропном эффекте. В настоящей работе ставилась цель оценить влияние синтезированных аналогов комбретастина на воспаление, индуцированное гистамином и конканавалином А.

табл. 2

На модели гистаминового воспаления показано (табл. 2), что соединения с пиперидиновым (VIa) и морфолиновым (VIIб) фрагментами не проявляют противовоспалительной активности, тогда как β -аминовинилкетоны с пирролидиновым (Vб), пиперидиновым (VIб) и морфолиновым (VIIa) остатками снижают величину отека в среднем в 1.5 раза относительно контроля. При этом их эффект не имеет достоверных различий с таковым у индометацина.

Таблица 2

В условиях воспаления, вызванного конканавалином А, соединения с пиперидиновым (VIa) и морфолиновым (VIIб) фрагментами с высокой вероятностью увеличивают воспалительный отек относительно контроля (табл. 3). Остальные производные комбретастина на фоне лектина не оказывают достоверного эффекта на величину отека, референсный препарат диклофенак достоверно подавляет воспалительную реакцию.

табл. 3

Таблица 3.

Сравнение результатов показывает, что синтезированные комбретастины оказывают модифицирующее влияние на воспалительные реакции, индуцированные флогенами. При этом соединения с пиперидиновым (VIa) и морфолиновым (VIIб) фрагментами способны усиливать экссудативный эффект воспаления вследствие очевидного повышения проницаемости сосудистой стенки. Напротив, β -аминовинилкетоны с пирролидиновым (Vб), пиперидиновым (VIб) и морфолиновым (VIIa) остатками в изученной дозе либо не

оказывают значимого эффекта на величину воспалительного отека, либо проявляют противовоспалительную активность.

Ранее сообщалось [2, 4, 5], что антитубулиновые свойства комбретастинов зависят от изомерии: активность *цис*-изомеров (*Z*-конфигурация) значительно выше, чем *транс*-форм (*E*-конфигурация). В работе [2] показано, что *цис*-ориентация двух ароматических колец СА-4 является важнейшим фактором для ингибирования роста раковых клеток, а его изомеризация в *транс*-форму в результате хранения или применения быстро приводит к значительному снижению полимеризации тубулина и противоопухолевой активности. Принимая во внимание эти результаты, нами было проведено сравнение данных эксперимента NOESY (табл. 1) с противовоспалительной активностью (табл. 2 и 3). В результате не было обнаружено однозначной связи между пространственной конформацией соединений и их вазотропными свойствами. Из двух комбретастинов (**VIa**) и (**VIIb**), вызвавших увеличение воспалительного отека, лишь у первого соединения обнаружена равновесная концентрация *цис*- и *транс*-изомеров в органических растворителях, тогда как для второго установлена *транс*-форма. Однако, учитывая обнаруженный нами факт, что растворитель может влиять на процесс изомеризации комбретастинов, можно предположить, что соотношение их изомеров в водно-твиновой суспензии, вводимой животным, могло измениться. Данное предположение нуждается в дальнейшей экспериментальной оценке.

Таким образом, в ряду впервые синтезированных аналогов комбретастина СА-4, β -аминовинилкетонов, обнаружены соединения с вазоактивными свойствами, увеличивающие экссудативный отек при местном воспалении, а также выявлены производные с противовоспалительной активностью.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Химическая часть

Спектрально-аналитические исследования проведены в Химическом сервисном центре коллективного пользования СО РАН.

Спектры ЯМР (δ , м.д., *J*, Гц) регистрировали на спектрометре Bruker AV-400 в CDCl_3 (последний также внутренний стандарт). Отнесение сигналов в спектрах ЯМР сделано на основании 2D-корреляций ^1H - ^1H (COSY, NOESY) и ^1H - ^{13}C (HSQC, HMBC). Масс-спектры высокого разрешения (МС-ВР) получены на масс-спектрометре Thermo Scientific DFS (Thermo Electron Co) методом прямого ввода (температура ионизации камеры 220–270 °С, напряжение 70 эВ). Температуры плавления определяли на аппарате Kofler. ИК-спектры записывали на спектрометре «Bruker Vector 22» в таблетках KBr. Хроматографию проводили

на силикагеле Merck 60 (0.063–0.2 мм), ТСХ – на пластинах Silufol UV-254 (Chemapol) и Kieselgel 60 F₂₅₄ (Merck) в системе толуол–этилацетат, 5:1, обнаружение УФ-облучением. Использовали морфолин, пирролидин, диэтиламин и пиперидин фирмы Aldrich. Исходные ацетиленовые кетоны (**IIIa,б**) были синтезированы, как описано ранее [7, 8].

(E)-3-Диэтиламино-3-(4-метоксифенил)-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ен-1-он (IVa). Смесь 390 мг (1.2 ммоль) 3-(4-метоксифенил)-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ин-1-она (**IIIa**) [7], 260 мг (3.6 ммоль) диэтиламина и 12 мл бензола выдерживали 8.5 ч при 50–55°C. По окончании реакции (ТСХ-контроль) реакционную массу охлаждали, фильтровали, растворитель удаляли в вакууме. Остаток кристаллизовали из толуола-гексана, получали 380 мг (79%) соединения (**IVa**), т. пл. 127.5–129 °С. Спектр ¹H-ЯМР: 1.23 (6H, м), 3.29 (4H, м), 3.81 (3H, с, OCH₃), 3.84 (9H, с, 3OCH₃), 5.86 (1H, с), 6.93 (2H, д, J 8.6, ArH), 7.09 (1H, с, ArH), 7.15 (2H, д, J 8.6, ArH). Найдено, %: С 69.18; Н 7.37; N 2.95. C₂₃H₂₉NO₅. Вычислено, %: С 69.15; Н 7.32; N 3.51. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 1624 (C=O).

(E)-3-(4-Метоксифенил)-3-(пирролидин-1-ил)-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ен-1-он (Va). Смесь 326 мг (1 ммоль) кетона (**IIIa**), 142 мг (2 ммоль) пирролидина и 10 мл бензола кипятили в течение 5.5 ч, растворитель удаляли в вакууме, остаток кристаллизовали из бензола. Получали 260 мг (65%) соединения (**Va**), т. пл. 102.5–103.5 °С. ¹H-ЯМР: 1.85–2.15 (4H, м), 3.13–3.46 (4H, м), 3.82 (3H, с, OCH₃), 3.86 (9H, с, 3OCH₃), 5.73 (1H, с), 6.94 (2H, д, J 8.6, ArH), 7.14 (1H, с, ArH), 7.19 (2H, д, J 8.6, ArH). MS-ВР: найдено, m/z 397.1886 [M]⁺. C₂₃H₂₇NO₅. Вычислено: M = 397.1884. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 1612 (C=O).

(E,Z)-3-(4-Метоксифенил)-3-(пиперидин-1-ил)-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ен-1-он (VIa). Смесь 280 мг (0.86 ммоль) кетона (**IIIa**), 146 мг (1.71 ммоль) пиперидина и 10 мл толуола кипятили в течение 5 ч, растворитель удаляли в вакууме, получали 180 мг (51%) соединения (**VIa**), как смеси 2 изомеров (E/Z, 7:3), т. пл. 85–87 °С.

E-изомер. Спектр ¹H-ЯМР: 1.62 (4H, м, H17, H19), 1.67 (2H, м, H18), 3.27 (4H, м, H16, H20), 3.80 (3H, с, 7-OCH₃), 3.85 (6H, с, 12,14-OCH₃ср.), 3.87 (3H, с, 13-OCH₃), 5.87 (1H, с, H2), 6.88 (2H, м, H8), 7.10 (2H, с, H11, H15), 7.19 (2H, м, H5, H9).

Z-изомер. Спектр ¹H-ЯМР: 1.63 (4H, м, H17, H19), 1.66 (2H, м, H18), 3.30 (4H, м, H16, H20), 3.81 (3H, с, 7-OCH₃), 3.84 (6H, с, 12,14-OCH₃ср.), 3.86 (3H, с, 13-OCH₃), 5.55 (1H, с, H2), 6.90 (2H, м, H6, H8), 7.14 (2H, с, H11, H15), 7.34 (2H, м, H5, H9).

MS-ВР: найдено: m/z 411.2040 [M]⁺. C₂₄H₂₉NO₅. Вычислено: M = 411.2039. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 1608 (C=O).

(E,Z)-3-(4-Метоксифенил)-3-морфолино-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ен-1-он (VIIa). Смесь 326 мг (1 ммоль) кетона (**IIIa**), 170 мг (2 ммоль) морфолина и 10 мл толуола кипятили в течение 10 ч, растворитель удаляли в вакууме, продукт кристаллизовали из

бензола. Получали 290 мг (70%) соединения (**VIIa**), как смесь 2 изомеров (*E/Z*, 7:3), т. пл. 153–155 °С.

E-изомер. Спектр ¹H-ЯМР: 3.23 (4H, м, H16, H16'), 3.73 (4H, м, H17, H17'), 3.80 (3H, с, 7-OCH₃), 3.85 (6H, с, 12,14-OCH₃ср.), 3.87 (3H, с, 13-OCH₃), 5.87 (1H, с, H2), 6.89 (2H, м, *J*₁ 0.3, *J*₂ 2.2, *J*₃ 8.5, H6, H8), 7.09 (2H, с, H11, H15), 7.19 (2H, м, *J*₁ 0.3, *J*₂ 2.8, *J*₃ 8.5, H5, H9). ¹³C-ЯМР (CDCl₃): 48.67 (C16, C16'), 55.41 (7-OCH₃), 56.47 (12,14-OCH₃), 61.08 (13-OCH₃), 66.83 (C17, C17'), 97.29 (C2), 105.54 (C11, C15), 114.34 (C6, C8), 128.10 (C4), 130.47 (C5, C9), 136.88 (C10), 141.07 (C13), 152.92 (C12, C14), 160.63 (C7), 165.00 (C3), 188.56 (C1).

Z-изомер. Спектр ¹H-ЯМР: 3.39 (4H, м, H16, H16'), 3.83 (4H, м, H17, H17'), 3.84 (3H, с, 7-OCH₃), 3.84 (6H, с, 12,14-OCH₃ср.), 3.86 (3H, с, 13-OCH₃), 5.61 (1H, с, H2), 6.92 (2H, м, *J*₁ 0.3, *J*₂ 2.1, *J*₃ 8.5, H6, H8), 7.14 (2H, с, H11, H15), 7.42 (2H, м, *J*₁ 0.3, *J*₂ 2.6, *J*₃ 8.5, H5, H9). ¹³C-ЯМР: 52.44 (C16, C16'), 55.68 (7-OCH₃), 56.39 (12,14-OCH₃), 61.11 (13-OCH₃), 67.62 (C17, C17'), 97.68 (C2), 105.25 (C11, C15), 114.14 (C6, C8), 130.68 (C4), 131.59 (C5, C9), 136.90 (C10), 140.81 (C13), 153.06 (C12, C14), 161.72 (C7), 164.54 (C3), 184.74 (C1).

МС-ВР: найдено, *m/z* 413.1833 [*M*]⁺. C₂₃H₂₇NO₆. Вычислено: *M* = 413.1830. ИК-спектр, *v*, см⁻¹: 1627 (C=O).

Взаимодействие 3-(4-нитрофенил)-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ин-1-она (**IIIб**) с пирролидином.

Смесь 170 мг (0.5 ммоль) кетона (**IIIб**) [8], 70 мг (1 ммоль) пирролидина и 10 мл бензола кипятили 2 ч. По окончании реакции (ТСХ-контроль) растворитель удаляли в вакууме. Колоночной хроматографией (толуол, толуол-этилацетат, этилацетат) выделяли:

3-Гидрокси-3-(4-нитрофенил)-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ен-1-он (VIII): выход 40 мг (22%), т. пл. 203–205 °С (бензол-гексан). Спектр ¹H-ЯМР: 3.93 (3H, с, OCH₃), 3.95 (6H, с, 2OCH₃), 6.78 (1H, с), 7.23 (2H, с), 8.11 (2H, д, *J* 8.8, ArH), 8.32 (2H, д, *J* 8.8, ArH), 16.74 (OH, с, 1H). ¹³C-ЯМР: 56.33, 60.95, 93.97, 104.89, 123.77, 127.85, 130.41, 140.70, 142.69, 149.71, 153.22, 180.19, 187.98. МС-ВР: найдено, *m/z* 359.1000 [*M*]⁺. C₁₈H₁₇NO₇. Вычислено: *M* = 359.0999. ИК-спектр, *v*, см⁻¹: 1591 (C=O); 3425 (OH).

(*E*)-3-(4-Нитрофенил)-3-(пирролидин-1-ил)-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ен-1-он (Vб): выход 120 мг (58%), т. пл. 185–186.5 °С (бензол). Спектр ¹H-ЯМР: 1.88 (2H, уш.м, H17, H17'), 2.08 (2H, уш.м, H17, H17'), 3.03 (2H, уш.м, H16, H16'), 3.49 (2H, уш.м, H16, H16'), 3.84 (9H, с, 12,13,14-OCH₃ср.), 5.80 (1H, с, H2), 7.09 (2H, с, H11, H15), 7.44 (2H, м, *J*₁ 0.4, *J*₂ 1.8, *J*₃ 8.4, H5, H9), 8.28 (2H, м, *J*₁ 0.4, *J*₂ 2.5, *J*₃ 8.4, H6, H8). ¹³C-ЯМР: 25.17 (C17, C17'), 25.66 (C17, C17'), 49.13 (C16, C16'), 50.21 (C16, C16'), 56.46 (12,14-OCH₃), 61.09 (13-OCH₃), 93.29 (C2), 105.26 (C11, C15), 124.30 (C6, C8), 128.52 (C5, C9), 136.75 (C10), 141.06 (C13), 145.53 (C4), 147.72 (C7), 152.94 (C12, C14), 159.73 (C3), 186.01 (C1). МС-ВР: найдено, *m/z* 412.1626 [*M*]⁺. C₂₂H₂₄N₂O₆. Вычислено: *M* = 412.1629. ИК-спектр, *v*, см⁻¹: 1622 (C=O).

Взаимодействие 3-(4-нитрофенил)-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ин-1-она (I6) с пиперидином.

Раствор 170 мг (0.5 ммоль) кетона (III6), 85 мг (1 ммоль) пиперидина в 5 мл толуола кипятили в течение 3 ч (ТСХ-контроль), из полученной смеси выделяли (см. предыдущую методику):

3-Гидрокси-3-(4-нитрофенил)-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ен-1-он (VIII): выход 60 мг (33%), т. пл. 202–204°C (бензол-гексан). Спектральные характеристики см. выше.

(E)-3-(4-Нитрофенил)-3-(пиперидин-1-ил)-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ен-1-он (VI6): выход 100 мг (47%), т. пл. 137–139°C (бензол). Спектр ¹H-ЯМР: 1.63 (4H, м, H17, H19), 1.69 (2H, м, H18), 3.23 (4H, м, H16, H20), 3.85 (9H, с, 12,13,14-OCH₃), 6.00 (1H, с, H2), 7.07 (2H, м, J₁ 0.3, J₂ 1.9, J₃ 8.5, H5, H9), 7.43 (2H, с, H11, H15), 8.27 (2H, м, J₁ 0.3, J₂ 2.4, J₃ 8.5, H6, H8). ¹³C-ЯМР: 24.37 (C18), 25.94 (C17, C19), 49.52 (C16, C20), 56.52 (12,14-OCH₃), 61.10 (13-OCH₃), 95.46 (C2), 105.35 (C11, C15), 124.19 (C6, C8), 129.46 (C5, C9), 136.56 (C10), 141.30 (C13), 144.72 (C4), 148.09 (C7), 153.03 (C12, C14), 162.29 (C3), 187.34 (C1). Найдено, %: C 64.62; H 5.90; N 6.46. C₂₃H₂₆N₂O₆. Вычислено, %: C 64.78; H 6.15; N 6.57. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 1625 (C=O).

(E)-3-(4-Нитрофенил)-3-морфолино-1-(3,4,5-триметоксифенил)проп-2-ен-1-он (VII6): Раствор 341 мг (1 ммоль) кетона (III6) и 174 мг (2 ммоль) морфолина в 10 мл толуола кипятили в течение 5 ч. После окончания реакции растворитель удаляли в вакууме, продукт кристаллизовали из бензола. Получали 365 мг (85%) соединения (VII6), т. пл. 195–197 °C. Спектр ¹H-ЯМР: 3.19 (4H, м, H16, H16'), 3.74 (4H, м, H17, H17'), 3.85 (9H, с, 12,13,14-OCH₃), 6.03 (1H, с, H2), 7.07 (2H, с, H11, H15), 7.44 (2H, м, J₁ 0.4, J₂ 1.8, J₃ 8.4, H5, H9), 8.26 (2H, м, J₁ 0.4, J₂ 2.5, J₃ 8.4, H6, H8). ¹³C-ЯМР: 48.36 (C16, C16'), 56.51 (12,14-OCH₃), 61.11 (13-OCH₃), 66.51 (C17, C17'), 97.34 (C2), 105.50 (C11, C15), 124.24 (C6, C8), 129.72 (C5, C9), 135.87 (C10), 141.68 (C13), 143.70 (C4), 148.21 (C7), 153.08 (C12, C14), 162.10 (C3), 187.67 (C1). МС-ВР: найдено, m/z 428.1578 [M]⁺. C₂₂H₂₄N₂O₇. Вычислено: M = 428.1574. ИК-спектр, ν, см⁻¹: 1639 (C=O).

Биологическая часть

Гистаминовое воспаление

В опыт взято 72 беспородных мышей–самцов (9 групп по 8 особей) массой 25–30 г. Изучаемые производные вводили внутрибрюшинно в виде взвеси в дистиллированной воде с добавлением эмульгатора Tween-80 в дозе 20 мг/кг. Отдельной группе мышей аналогично вводили эталонный препарат индометацин (Fluka) в эффективной дозе 20 мг/кг,

контрольным животным – воду. Через 1 ч после введения агентов всем мышам субпланарно в заднюю лапу вводили 0.01% водный раствор гистамина по 0.05 мл/мышь. Через 5 ч после введения флогогена мышей умерщвляли цервикальной дислокацией позвоночника, отсекали обе задние лапы, определяли массу каждой. Противовоспалительный эффект оценивали по величине индекса воспаления, который определяли как отношение разности масс воспаленной и интактной лап к массе интактной, выраженное в %. Результаты обрабатывали статистически с помощью пакета программ «STATISTIKA 8».

Конканавалиновое воспаление

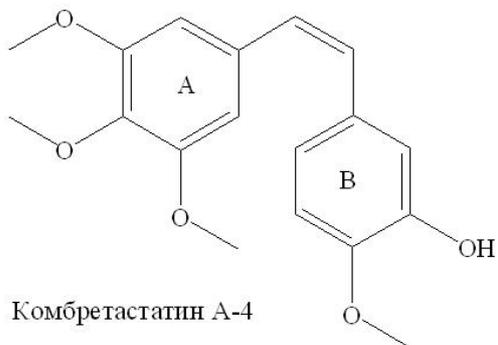
Воспалительный отек вызывали у 72 беспородных мышей самцов массой 25–30 г введением в апоневроз задней лапы по 0.02 мл раствора конканавалина-А концентрацией 5 мг/мл. За 1 ч до введения лектина опытным группам вводили внутривбрюшинно агенты в виде водно-твиновой взвеси в дозе 20 мг/кг. Референсной группе вводили диклофенак в эффективной дозе 20 мг/кг. Через 1 ч после введения конканавалина А мышей умерщвляли цервикальной дислокацией и определяли индекс отека лапы как указано выше.

БЛАГОДАРНОСТИ

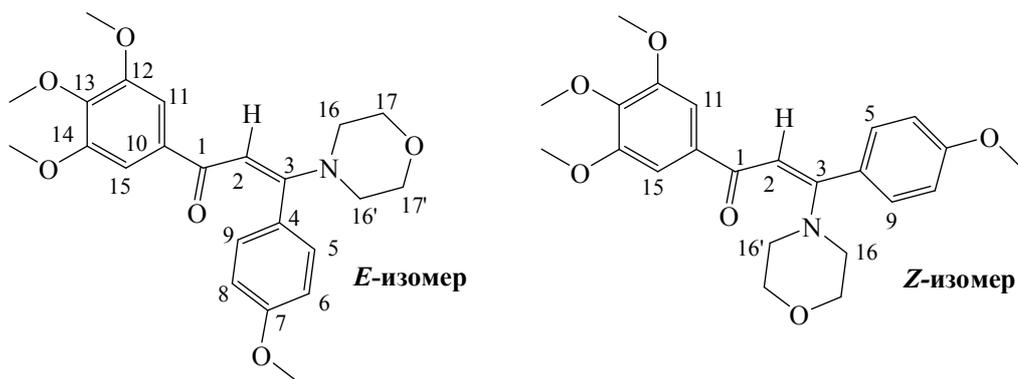
Работа поддержана грантом РФФИ №13-03-00129а (2013-2015), грантом РАН 5.9.3 (2014), Министерством образования и науки Российской Федерации (2014–2016) и Химическим сервисным центром СО РАН.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. *Pettit G.R., Singh S.B., Hamel E., Lin C.M., Alberts D.S., Garcia-Kendall D.* // *Experientia*. 1989. V. 45. P. 209–211.
2. *Tron G.C., Piralì T., Sorba G., Pagliai F., Busacca S., Genazzani A A.* // *J. Med. Chem.* 2006. V. 49. P. 3033–3044.
3. *Cushman M., Nagarathnam D., Gopal D., He H.M., Lin C.M., Hamel E.* // *J. Med. Chem.* 1992. V. 35. P. 2293–2306.
4. *Mikstacka R., Stefański T., Róžański J.* // *Cell. Mol. Biol. Lett.* 2013. V. 18. P. 368–397.
5. *Cirla A., Mann J.* // *Nat. Prod. Rep.* 2003, V. 20. P. 558–564.
6. *Kerr D.J., Hamel E., Jung M.K., Flynn B.L.* // *Bioorg. Med. Chem.* 2007. V. 15. P. 3290–3298.
7. *Василевский С.Ф., Давыдова М.П., Толстиков Г.А.* // *Химия гетероцикл. соединений*. 2008. V. 10. С. 1545–1549.
8. *Roy S., Davydova M.P., Pal R., Gilmore K., Tolstikov G.A., Vasilevsky S.F., Alabugin I.V.* // *J. Org. Chem.* 2011. V. 76. P. 7482–7490.
9. *Занина А.С., Шергина С.И., Соколов И.Е., Мясникова Р.Н.* // *Журн. орг. химии*. 1995. V. 4. С. 710–714.



Формула 1.



Формулы 2.

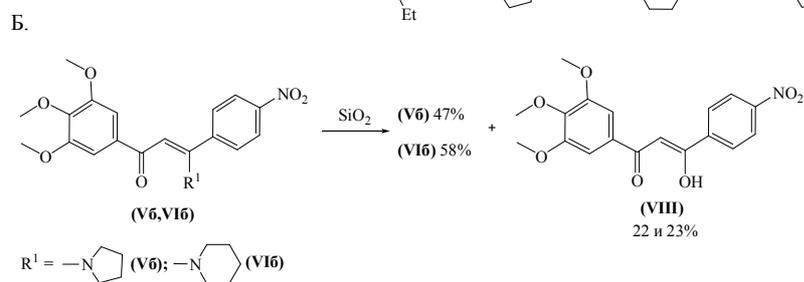
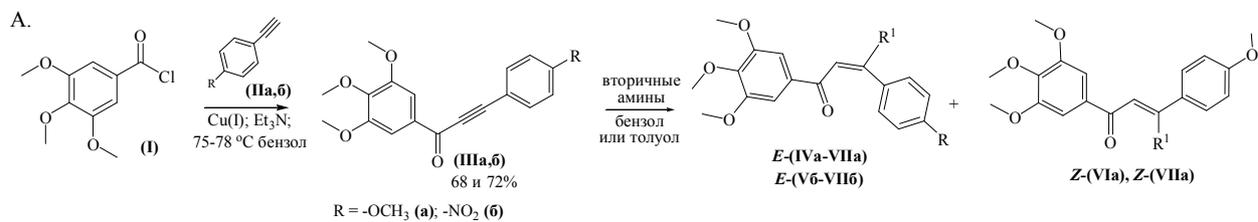


Схема А, Б.

Таблица 1. Условия протекания реакции кетоацетиленов (III) с вторичными аминами (схема) и выходы β -аминовинилкетон.

Продукт	Изомер	Время реакции, ч	Температура реакции, °С	Растворитель	Выход, %
(IVa)	<i>E</i>	8.5	55	бензол	79
(Va)	<i>E</i>	5.5	80	бензол	65
(Vб)	<i>E</i>	2	80	бензол	58
(VIa)	<i>E+Z</i>	5	110	толуол	51
(VIб)	<i>E</i>	3	110	толуол	47
(VIIa)	<i>E+Z</i>	10	110	толуол	77
(VIIб)	<i>E</i>	5	110	толуол	85

Таблица 2. Влияние аналогов комбретастина А-4 на величину воспалительного отёка лапы мышей, индуцированного субпланарным введением гистамина.

Группа	Средний индекс отёка	Размер отёка, %	Противовоспалительный эффект, %
Контроль	26.4±1.6#	100	0
(VIa)	25.0±1.8#	94.7	5.3
(VIIб)	23.8±1.3#	90.1	9.9
(VIIa)	18.7±1.2*	70.8	29.2
(Vб)	18.2±1.4*	68.9	31.1
(VIб)	16.8±1.0**	63.6	36.4
Индометацин	19.0±0.9**	72.0	28.0

* $P < 0.05$, ** $P < 0.01$ относительно контрольной группы; # $P < 0.01$, относительно группы с внутрибрюшинным введением индометацина (20 мг/кг).

Таблица 3. Влияние аналогов комбретастина А-4 на величину воспалительного отёка лапы мышей, индуцированного субпланарным введением конканавалина А.

Группа	Средний индекс отёка	Размер отёка, %	Противовоспалительный эффект, %
Контроль	15.1±1.5 [#]	100	0
(VIa)	19.2±1.2 ^{###*}	127.1	-27.1
(VIIб)	18.9±1.2 ^{###**}	125.2	-25.2
(VIIa)	16.0±1.2 ^{##}	106.0	-6.0
(Vб)	15.9±0.9 ^{##}	105.3	-5.3
(VIб)	14.5±1.1 ^{##}	96.0	4.0
Диклофенак	10.5±0.6 ^{***}	69.5	30.5

* $P=0.05$, ** $P=0.06$, *** $P<0.01$ относительно контрольной группы; # $P<0.05$, ## $P<0.01$ относительно группы с внутрибрюшинным введением диклофенака.

Подписи к формулам

Формула 1. Структура комбретастатина А-4.

Схема. Получение β -аминовинилкетонов (IVa)-(VIIa) и (Vб)-(VIIб) (А) и гидролиз
виниламинов (Vб, VIб) (Б)

Формулы 2. Структура *E*- и *Z*-изомеров соединения (VIIa).

**Synthesis of new analogues of Combretastatin A-4 and
the study of their anti-inflammatory activity**

M. P. Davydova^{*}, I. V. Sorokina^{}, T. G. Tolstikova^{**},
V. I. Mamatyuk^{**},^{***}, D. S. Fadeev^{**}, S. F. Vasilevsky^{*},^{***},[#]**

Phone: +7 (383) 333-33-47; fax: +7(383) 330-73-50; e-mail: vasilev@kinetics.nsc.ru

^{}V.V. Voevodsky Institute of Chemical Kinetics and Combustion, SB of the Russian Academy of
Sciences, 3 Institutskaya str., 630090 Novosibirsk, Russian Federation*

*^{**}N.N. Vorozhtsov Novosibirsk Institute of Organic Chemistry, SB of the Russian Academy of
Sciences, 9 prosp. Acad. Lavrent'eva, 630090 Novosibirsk, Russian Federation*

*^{***}Novosibirsk State University, 2 Pirogova Str., 630090, Novosibirsk, Russian Federation*

New approach to synthesis of analogs of natural Combretastatin A-4 based on interaction of α -acetylenic ketones with secondary amines (diethyl amine, pyrrolidine, piperidine, morpholine) is offered. Unknown analogs of Combretastatin A-4 with β -aminovinylcarbonyl bridges are received earlier. Anti-inflammatory activity of the received connections is studied.

Keywords: Combretastatin A-4, α -acetylenic ketones, β -vinylamines, anti-inflammatory activity