

Одеський національний університет імені І.І. Мечникова  
Факультет хімії та фармації  
Кафедра органічної та фармацевтичної хімії

## Кваліфікаційна робота

на здобуття ступеня вищої освіти магістра

на тему: «Синтез та біологічна активність похідних  
індоло[2,1-*b*]хіназоліну»

“ Synthesis and biological activity of indolo[2,1-*b*]quinazoline derivatives ”

Виконала: студентка денної форми навчання  
спеціальності 102 «Хімія»

**Радудік Алевтина Вадимівна**

Керівник: к. х. н., доц. Ведута В. В. \_\_\_\_\_  
(підпис)

Науковий консультант: к.х.н. Карпенко О.С. \_\_\_\_\_  
(підпис)

Рецензент: к.х.н., доц. Кіосе Т. О. \_\_\_\_\_  
(підпис)

Рекомендовано до захисту:  
Протокол засідання кафедри  
№ \_\_\_\_\_ від \_\_\_\_\_ 2023 р.

Захищено на засіданні екзаменаційної комісії  
протокол № \_\_\_\_\_ від « \_\_\_\_\_ » \_\_\_\_\_ 2023 р.  
Оцінка \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_ / \_\_\_\_\_  
(за національною шкалою, за шкалою ECTS, бал)

Завідувач кафедри \_\_\_\_\_  
д. х. н., проф. Ольга ШЕВЧЕНКО

Голова екзаменаційної комісії  
\_\_\_\_\_ д.х.н, проф. Ольга ШЕВЧЕНКО  
(підпис)

Одеса – 2023

## РЕФЕРАТ

Дипломну роботу виконано на кафедрі органічної та фармацевтичної хімії ОНУ імені І.І. Мечникова, спільно з відділом медичної хімії та хемоінформатики Фізико-хімічного інституті імені О.В. Богатського НАН України. Робота присвячена синтезу похідних 6,12-дигідроіндоло[2,1-*b*]хіназолін-6,12-діону (далі-триптантрину), а також дослідженню їх біологічної активності. Дана робота є частиною наукового напрямку діяльності означених кафедри та лабораторії.

У роботі досліджено та оптимізовано процес синтезу похідних триптантрину, будову сполук підтверджено за допомогою фізичних та фізико-хімічних методів дослідження (мас-спектрометрія, спектроскопії ЯМР  $^1\text{H}$ , спектроскопія ЯМР  $^{13}\text{C}$ ).

Отримані дані з протизапальної та ДНК-зв'язуючої активності похідних триптантрину, оптимізований процес їхнього синтезу.

Можлива область застосування: терапевтичне лікування запальних реакцій чи вірусних інфекцій.

*Ключові слова:* синтез похідних триптантрину, протизапальна активність, противірусна активність.

Дипломна робота складається з: 49 стор. машинописного тексту, 5 рис., 9 табл., 38 використаних джерел літератури

## ЗМІСТ

ВСТУП .....	5
РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ .....	6
1.1. Біологічна активність триптантрину, та його похідних .....	6
1.1.1. Протипухлинна активність .....	6
1.1.2. Протівірусна активність .....	10
1.1.3. Протизапальна активність .....	12
1.1.4. Інші види біологічної активності .....	14
1.2. Методи синтезу .....	15
2. РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА .....	18
2.1. Об'єкти дослідження .....	18
2.2. Методики синтезу .....	18
2.2.1. Методика синтезу похідних триптантрину .....	19
2.2.2. Методика синтезу оксимів триптантрину .....	20
2.2.3. Оптимізація синтезу 7-амінопохідних триптантрину .....	20
2.2.4. Методика синтезу 7-амінопохідних триптантрину .....	22
2.3. Результати синтезу та їх обговорення .....	22
2.4. Підтвердження хімічної будови .....	28
2.4.1. Дослідження за допомогою мас-спектроскопії .....	28
2.4.2. Дослідження за допомогою спектроскопії ЯМР <sup>1</sup> H .....	31
2.4.3. Дослідження за допомогою спектроскопії ЯМР <sup>13</sup> C .....	34
2.4.4. Дослідження спектральних властивостей речовини 38 .....	36
2.5. Результати біологічних досліджень .....	37
2.5.1. Цитотоксичність на клітинах THP-1Blue .....	37
2.5.2. Активація AP-1/NF-κB .....	37

2.5.3.	Афінитет похідних триптантрину до JNK.....	38
2.5.4.	Афінитет до ДНК сполуки 38 .....	39
2.5.5.	Дослідження інгібуючої дії на пізню стадію реплікації ВІЛ-1 ..	42
ВИСНОВКИ.....		44
ЛІТЕРАТУРА .....		45

## ВСТУП

Триптантрин (індоло[2,1-b]хіназолін-6,12-діон) - це індолхіназоліновий алкалоїд з індигоносних рослин, таких як *Isatis indigotica* Fort. Ця природна сполука демонструє різноманітну фармакологічну дію, наприклад протипухлинну, антибактеріальну, протизапальну, антиоксидантну, протиалергенну, антидіабетичну, антипрозоїну та протипаразитарну дію тощо

Актуальність цього дослідження обумовлена тим, що у більшості випадків для лікування запальних процесів застосовують нестероїдні протизапальні препарати (наприклад, парацетамол, ібупрофен, німесулід, аспірін, кетопрофен), які є інгібіторами циклооксигенази 1 і 2 (ЦОГ 1 і ЦОГ 2). Виявлені побічні ефекти та недостатня специфічність у інгибуванні ЦОГ 2 у класичних нестероїдних протизапальних засобах є основними факторами, які продовжують стимулювати пошук нових методів лікування запалення.

В данній роботі вперше: синтезований ряд похідних триптантрину, показана протизапальна активність оксимів, і показана нуклеотропна активність (можливість зв'язування з ДНК).

Метою данного дослідження є отримання похідних триптантрину, та подальший протизапальний та противірусний скрінінг синтезованих сполук *in vitro*.

Для досягнення мети були вирішені наступні задачі:

1. Проведення синтезу низки похідних триптантринів;
2. Вивчення структури синтезованих сполук за допомогою фізичних і фізико-хімічних методів аналізу;
3. Аналіз залежності біологічної активності оксимів триптантринів від їхньої молекулярної структури.

## РОЗДІЛ 1. ОГЛЯД ЛІТЕРАТУРИ

### 1.1. Біологічна активність триптантрину, та його похідних

Триптантрин (індоло[2,1-b]хіназолін-6,12-діон) – природний алкалоїд, який зустрічається в природі, зокрема в листях *Strobilanthes cusia*. Ця рослина відома здавна, бо використовується в народній китайській медицині, саме тому вивчення її екстрактів і сполук, що містяться в ній, викликає інтерес у дослідників.

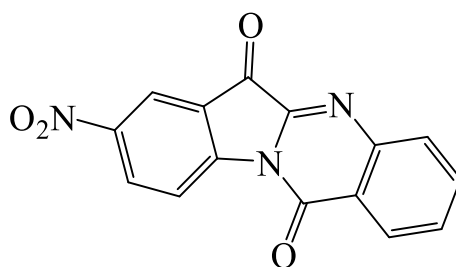
#### *1.1.1. Протипухлинна активність*

Триптантрин показує в багатьох дослідженнях значну активність проти раку, наприклад крові, легенів, товстої кишки тощо. Дана речовина у низьких концентраціях індукує диференціацію клітин моноцитарної та промієлоцитарної лейкемії, а у вищих концентраціях він індукує опосередкований каспазою апоптоз. Також триптантрин демонструє помірний протипухлинний ефект проти клітинної лінії нейробластоми LA-N-1 [1].

Авторами статті [2] наводяться дані про активність незаміщеного триптантрину на лінії клітин MCF-7 (модель раку молочної залози). Крім того, була створена модель мишачого раку молочної залози 4T1 для вивчення фармакологічної активності триптантрину. Згідно з результатами експерименту *in vivo*, триптантрин був ефективним у пригніченні росту пухлини, і не викликав коливань маси тіла. Миші в експериментальних групах після лікування триптантрином мали кращий апетит і більший діапазон рухів кінцівок, ніж миші в групі патологічної моделі. На середню масу тіла мишей із пухлиною триптантрин у різних дозах явно не вплинув на 13-й день після введення триптантрину.

Паралельно, китайськими вченими було проведено дослідження [3], в якому описали протипухлинну активність 2-, 8-, а також 2,8- дізаміщених триптантринів *in vitro*, на лініях клітин Hep3B (лінія клітин гепатоми

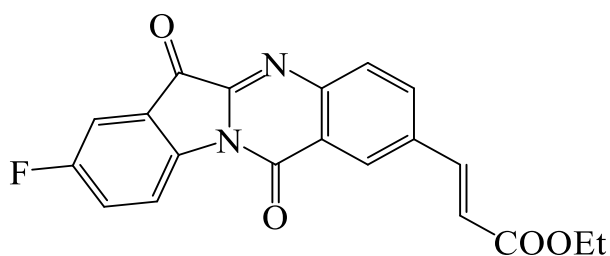
людини) та SK-Nер1 (клітини аденокарциноми). Найвищу активність показав 8-нітротриптантрин (сполука 1).



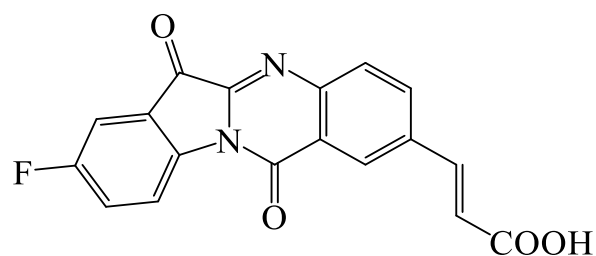
Сполука 1

У статті [4] наведені дані, що пухлини тварин, які отримували триптантрин (1 мг), класифікували як папілому з легкою дисплазією. Спостерігали зменшення розміру пухлини на 60,1%. також зазначено, що застосування 1 мг триптантрину не викликало патологічних змін нормальної шкіри, що підтверджує біологічну безпеку сполуки.

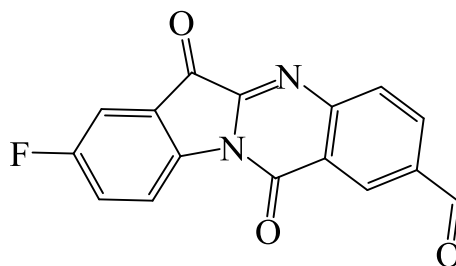
Також триптантрини можуть інгібувати ферменти індолеамін-2,3-діоксигеназа 1 (IDO1) і триптофан-2,3-діоксигеназа (TDO), які беруть участь у розвитку ракових, а також нейродегенеративних захворювань. В ході досліджень [5] інгібування ферментів *in vitro* на клітинах HeLa (лінія клітин раку шийки матки), було виявлено, що сполуки 2 і 3 мали високу інгібуючу активність до IDO1, а сполуки 3 та 4 - до ферменту TDO.



Сполука 2



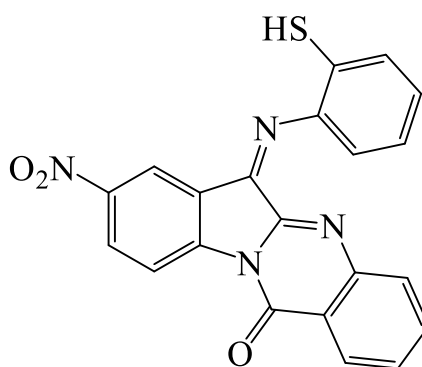
Сполука 3



Сполука 4

В дослідженні впливу похідних триптантрину на лінію клітин раку легенів (A549) [6] незаміщений триптантрин продемонстрував найбільший інгібуючий ефект зі значенням  $IC_{50} 0.55 \pm 0.33$  мкМ.

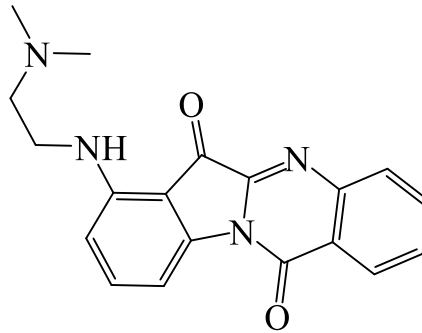
Триптантрини можуть виступати інгібіторами топоізомерази II (topoII), таким чином проявляючи протипухлинну дію. Індійськими вченими було проведене дослідження [7] активності інгібування триптантрином топоізомерази II (topoII). Експеримент *in silico* проводився в Merck Molecular Force Field (MMFF94x). З 160 структур похідних триптантрину була виділена сполука лідер (сполука 5).



Сполука 5

Серія експериментів інгібування триптантрином topoII також була проведена італійськими вченими *in vitro* на моделях лейкемії, раку товстої кишки та молочної залози. В ході дослідження [8] було синтезовано 12 амінопохідних триптантрину, які мали залишки вторинних або третинних амінів; наявність даної функціональної групи збільшує розчинність сполук у воді, таким чином покращуючи їхню засвоюваність в організмі людини. Найменше значення  $IC_{50}$  мала сполука 6 ( $26.6 \pm 4.7$  мкМ); крім того, сполука 6

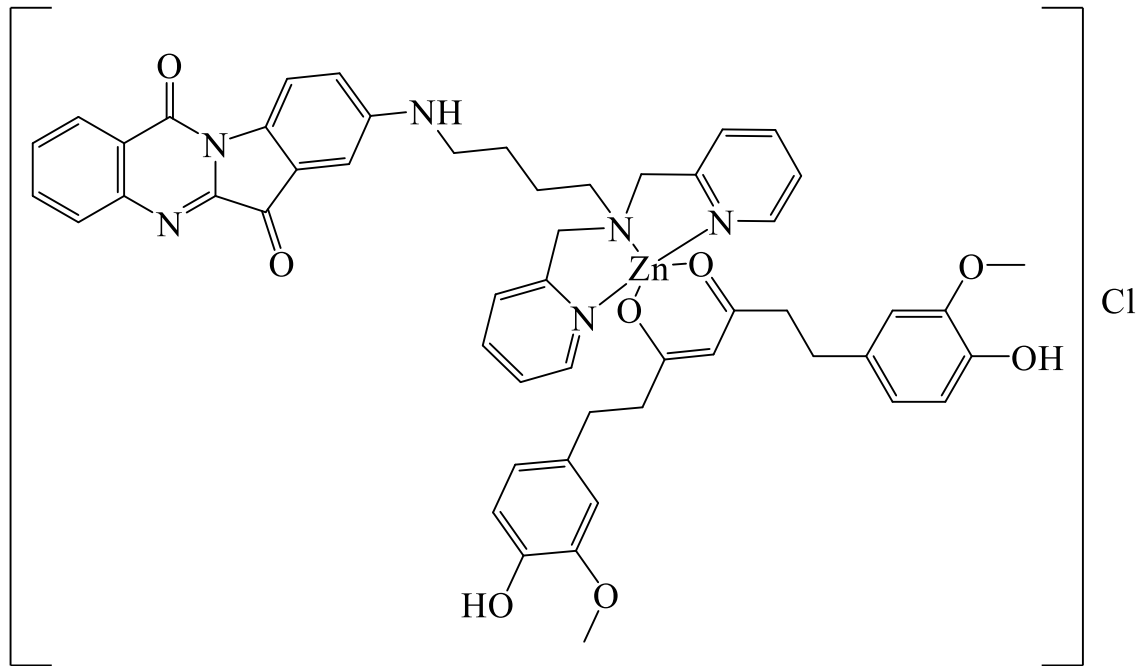
також демонструє антипроліферативну активність щодо різних клітинних ліній пухлин, таких як гострий лейкоз, рак товстої кишки та молочної залози.



Сполука 6

При вивченні антимеланомної активності триптантрину *in vitro* та *in vivo* [9] було показано, що триптантрин індукує апоптоз клітин меланоми *in vitro* та пригнічує ріст клітин меланоми; також дана сполука запобігає метастазуванню клітин меланоми у віддалені органи та інгібує розвиток первинних ортотопічних пухлин у мишей. Експерименти на мишах демонструють ефективність даного алкалоїду у послабленні міграції та метастазування клітин меланоми.

Також проводилися дослідження біологічної активності комплексів триптантрину з d-металами. Наприклад в роботі [10] вивчається протипухлинна активність комплексу триптантрину з цинком на клітинах A549/DDP (клітини раку легень). В статті висвітлено, що комплекси накопичуються в ядрах клітин і викликають пошкодження ДНК, зупинку клітинного циклу, мітохондріальну дисфункцію та апоптоз клітин як *in vitro*, так і *in vivo*. Крім того, сполука 7 продемонструвала більш високу антипроліферативну дію на A549/DDP, ніж інші комплекси, які розглядаються в данній роботі, що вказує на те, що синтезована сполука має добру протипухлинну ефективність *in vivo* з мінімальними побічними ефектами.



Сполука 7

### 1.1.2. Протівірусна активність

В роботі [11] вивчали екстракт листя *S. Cusia*, який інгібував цитопатичний ефект (CPE) і вихід вірусу ( $IC_{50} = 0.64$  мкг/мл) в клітинах, інфікованих HCoV-NL63. Крім того, цей екстракт потужно пригнічував інфекцію HCoV-NL63. Серед шести компонентів, ідентифікованих у метанольному екстракті листя *S. Cusia*, ( $\beta$ -ситостерин, індірубін, триптантрин, бетулін, індигодол А та індигодол В) саме триптантрин продемонстрував сильну протівірусну активність.

При дослідженні дії триптантрину для профілактики і лікування клітин Madin–Darby canine kidney (MDCK) від вірусу грипу A/PR/8/34 (H1N1) була виявлена більша ефективність при профілактичному використанні, ніж при одночасному лікуванні [12].

У роботі [13], отримані результати експериментів *in silico*, показали, що триптантрин є перспективним протівірусним агентом, тому дану сполуку продовжили тестувати *in vitro*. У клітинному експерименті він

показав ефективність ( $IC_{50} < 100$  мкМ) проти штамів H1N1 і H3N2 дикого типу.

За даними [14] у експериментах *in silico* було показано, що триптантрин має потенціал до зв'язування з папаїновою протеазою PLpro ( $\Delta G = -41.31$  ккал/моль), яка приймає участь у розвиненні вірусу SARS-CoV-2. Також, продемонстровано, що за величиною  $TD_{50}$  триптантрин перевершує препарат порівняння ремдесвір, показуючи меншу токсичність.

Використовуючи клітини THP-1, диференційовані форболміристат-ацетатом (PMA), у статті [15] проаналізували рівень білка фосфорильованого STAT1 (p-STAT1) після стимуляції поліінозиною поліцитидиловою кислотою (poly IC) та лігандом TLR3 або триптантрином. Було виявлено, що даний алкалоїд знижує рівень білка p-STAT1. З іншого боку, він не впливав на рівні p-STAT1 при стимуляції ліпополісахаридом з *Escherichia coli*.

У дослідженні [16] проводився аналіз протівірусної активності триптантрину в індивідуальному виді і екстракту листя індиго, на збудника інфекції SARS-CoV-2. Аналіз док-симуляції показав, що триптантрин легко зв'язується з доменом зв'язування рецепторів білка S1, і визначив послідовності з 2 та 7 амінокислот як переважні сайти зв'язування. Екстракт листя індиго пригнічує зв'язування S1-ACE2 у високих розведеннях і, очевидно, містить інші інгібуючі елементи, крім триптантрину. Вказується, що триптантрин знижує інфекційність HCoV-NL63 зі значеннями  $IC_{50} = 0.30$  і  $1.52$  мкМ у клітинах Calu-3 і LCC-MK2 відповідно. З точки зору цитотоксичності очікується, що триптантрин слугуватиме інгібітором зв'язування S1-ACE2 у безпечному діапазоні концентрацій.

В праці [17] при аналізі енергії зв'язування, яку отримали під час досліджень *in silico*, було показано, що триптантрин є потенційним подвійним антагоністом проти SARS-CoV-2, одночасно блокуючи спайковий білок вірусу та рецептор вірусу ACE2 відповідно.

При дослідженні протівірусної активності триптантрину *in silico* було виявлено, що серед кількох натуральних продуктів, перевірених за допомогою док-аналізу, триптантрин демонстрував один з найвищих ступенів взаємодії з вірусною протеазою. Таким чином, цей натуральний продукт може стати потенційним основним інгібітором протеази COVID-19 [18].

### *1.1.3. Протизапальна активність*

При дослідженні протизапальної активності триптантрину [19] використаною моделлю гострого запалення був індукований карагенаном набряк лапи у мишей. Тварини дослідної групи отримували триптантрин або індометацин (позитивний контроль), тоді як миші контрольної групи отримували лікування лише ДМСО. Найбільший відсоток інгібування спостерігався в групі тварин, де використовували триптантрин в концентрації 24 мг/кг, причому цей результат перевищив результат групи, де використовували індометацин. Триптантрин також показав добру протизапальну активність і на інших моделях, які використовувалися в цьому дослідженні: занурення хвоста, реакція від гарячої пластини, звиви від оцтової кислоти. При додаткових дослідженнях була помічена знеболювальна дія триптантрину.

Аналізуючи вплив триптантрину на експресію цитокінів і хемокінів ендотеліальних клітин пупкової вени людини (HUVEC), було відмічено, що він пригнічує експресію CXCL10 після стимуляції Poly IC кислотою, що показує, що він може бути корисним для регуляції опосередкованого TLR3 запалення судин [20].

У статті [21] було показано, що індольні алкалоїди, індигодоли А, С, D, триптантрин та індірубін мають інгібуючі властивості до IL-17A, що робить їх потенційними протизапальними агентами.

У роботі [22] автори продемонстрували, що триптантрин та його оксимали високу спорідненість до JNK і були селективними для JNK1/JNK3

проти JNK2. Ці сполуки також інгібували LPS-індуковану ядерну активацію NF- $\kappa$ B/AP-1 і продукцію IL-6 у моноцитарних клітинах людини. А молекулярне моделювання (

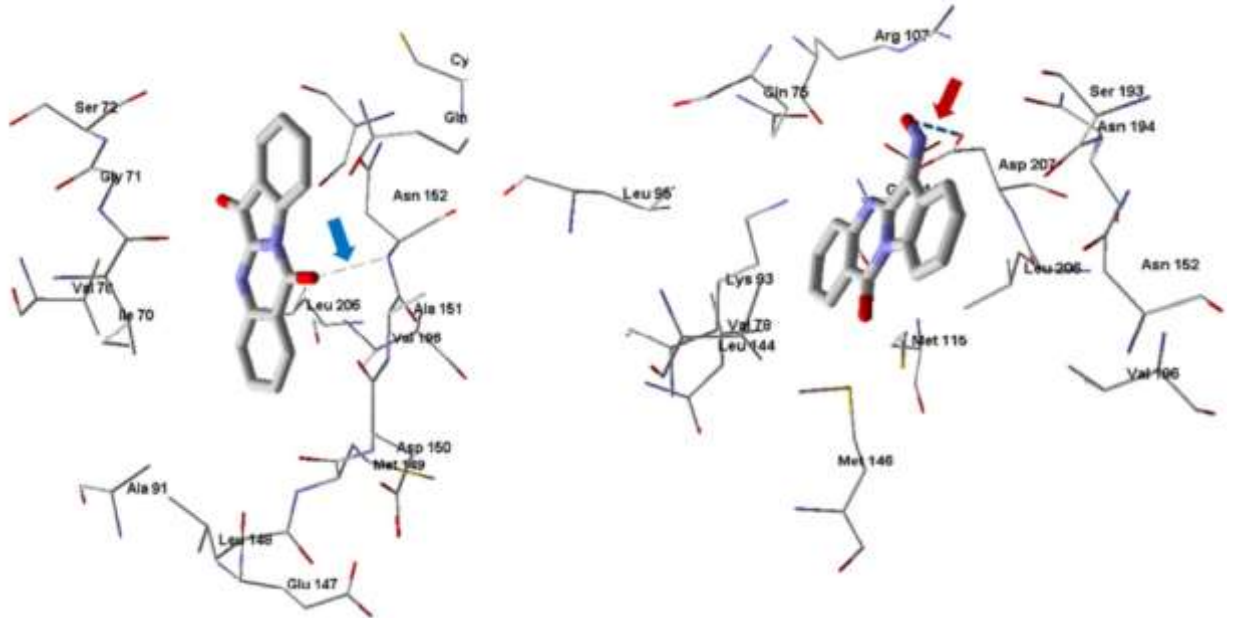


Рис.1.) показало, що атоми кисню оксимної або амідної груп брали участь в утворенні міцних Н-зв'язків із залишками в місцях зв'язування JNK1/JNK3.

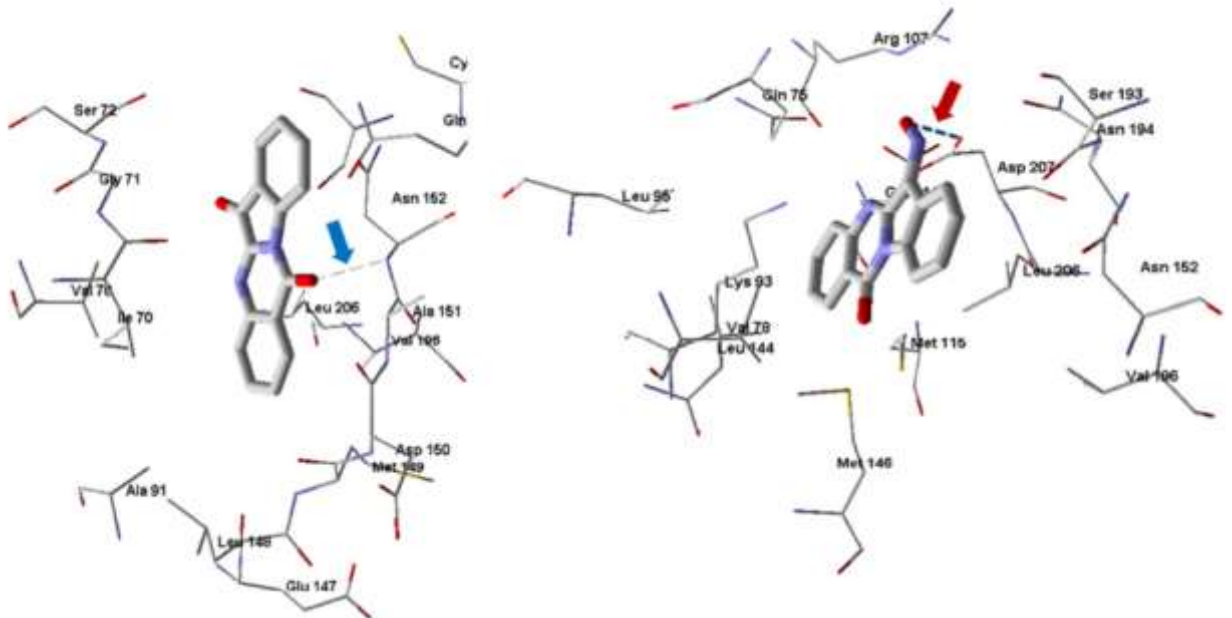


Рис.1. Пози стикування триптантрину (ліворуч) та триптантрин-6-оксиму (праворуч) у JNK3 за даними [22].

#### 1.1.4. Інші види біологічної активності

Окрім вище зазначених властивостей, також досліджуються і інші активності, за рахунок яких триптантрин буде проявляти позитивний вплив на стан людини. Однією з таких активностей є фунгіцидна.

На моделі дерматофітії з використанням фібробластів і кератиноцитів, інфікованих *T.benhamiae* DSM6916, досліджували вплив триптантрину на цей стан [23]. Концентрації, ефективні для пригнічення росту грибків, виявилися нешкідливими для клітин *in vitro*, що підтверджується індексом біосумісності (співвідношення  $LC_{50}$  та  $IC_{50}$ ) і були більше одиниці. Таким чином, триптантрин є перспективним кандидатом для альтернативної ад'ювантної терапії для контролю та боротьби з грибковими інфекціями [23].

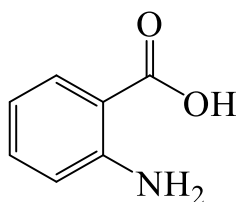
Триптантрин має протигрибкову активність з мінімальною інгібуючою концентрацією 2 мкг/мл проти видів *Cryptococcus* і 8 мкг/мл проти *Trichophyton rubrum*. При аналізі [24] було наведено, що триптантрин виявляє фунгістатичну та потужну протигрибкову дію при підвищеній температурі, а також дана сполука продемонструвала синергічний ефект з інгібіторами кальциневрину FK506 і циклоспорином А проти *Cryptococcus neoformans*. Триптантрин індукує зупинку клітинного циклу на фазі G1/S, регулюючи експресію генів, що кодують цикліни та комплекс SBF/MBF (CLN1, MBS1, PCL1 та WHI5) у *C. neoformans*.

Повідомлялося [25], що триптантрин продемонстрував антимікробну дію вузького спектру проти *Campylobacter jejuni*, і існував невеликий потенціал для розвитку триптантрин-резистентного *C. jejuni* під час серійного пасування культури. В експериментах із зараженням курчат введення даного алкалоїду у питну воду значно зменшувало колонізацію *C. jejuni* в сліпій кишці, коли його використовували до або після зараження *C. jejuni*. Ці дані свідчать про ефективність індохіназоліну для контролю *C. jejuni* на птахофабриках [25].

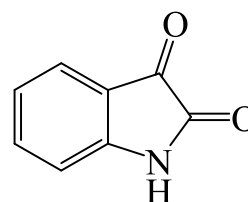
Також є дослідження на антипсоріазну активність триптантрину. Наприклад, в статті [26] мишам, які мали псоріаз, індукований іміхімодом (IMQ), вводили фізіологічний розчин (модель), триптантрин (25 і 100 мг/кг) або метотрексат (МТХ, 1 мг/кг) і вважали їх позитивним контролем. Паралельно у експериментах *in vitro* використовували TNF- $\alpha$ -індуковані кератиноцити (клітини HaCaT) з триптантрином (0, 10, 20 і 50 нМ) для перевірки. Природний алкалоїд значно послаблював псоріатичні ураження шкіри, знижував індекс селезінки, накопичення MDA, велику кількість клітин Th17 як у селезінці, так і в лімфатичних вузлах, а також секрецію запальних цитокінів у мишачих моделях псоріазу, індукованого IMQ.

## 1.2. Методи синтезу

При синтетичному отриманні похідних триптантрину можуть використовуватися в якості вихідних сполук похідні антранілової кислоти або ізатину (сполуки 8 та 9):

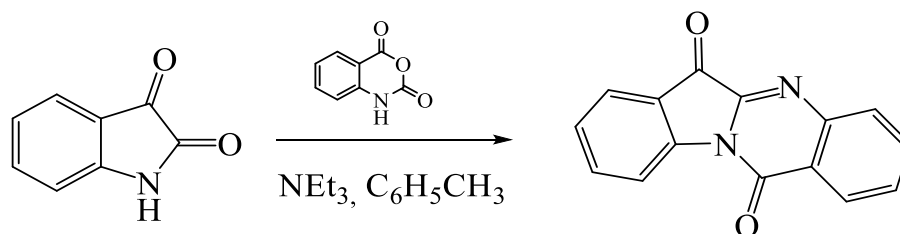


Сполука 8

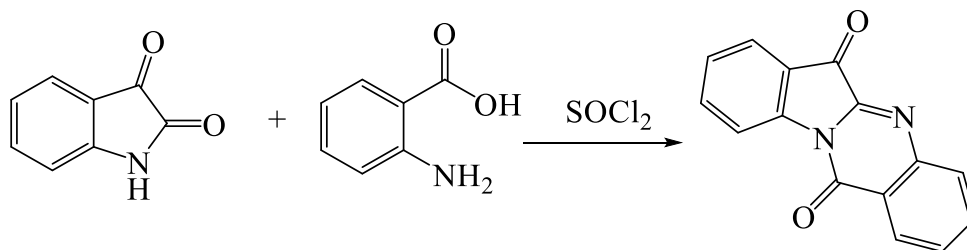


Сполука 9

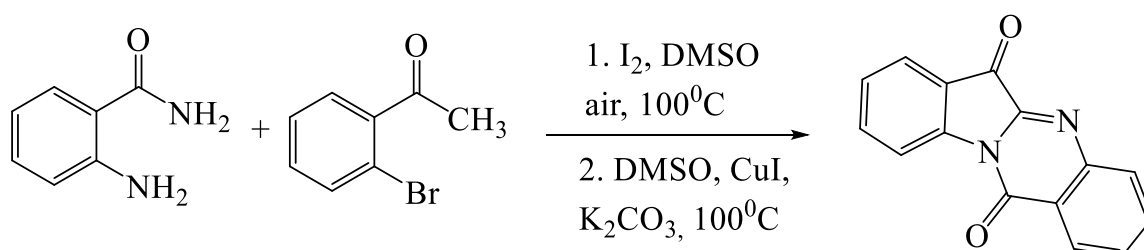
Одним з методів отримання похідних триптантрину є реакція конденсації ізатину з ізатовим ангідридом у присутності каталізатора (триетиламіну) в середовищі толуолу [27, 28].



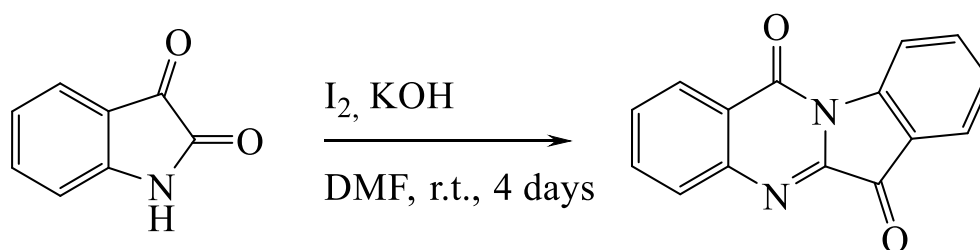
Одностадійна реакція ізатину та його похідних з антраніловою кислотою у присутності  $\text{SOCl}_2$  відповідно призвела до відповідних триптантринів [29].



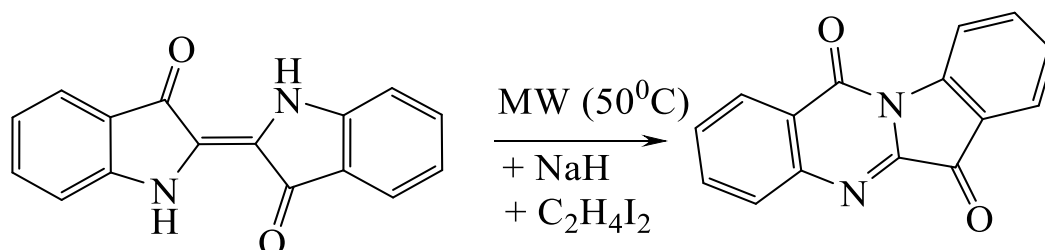
Відома методика синтезу триптантринів, в основі якої лежить двостадійна реакція сполучення антраніламиду з 2-бромацетофеноном. На першій стадії антраніламід реагує з 2-бромацетофеноном та йодом у присутності ДМСО. На другій стадії проходить реакція продукту з  $\text{CuI}$  та  $\text{K}_2\text{CO}_3$  в диметилсульфоксиді при  $100^\circ\text{C}$  [30].



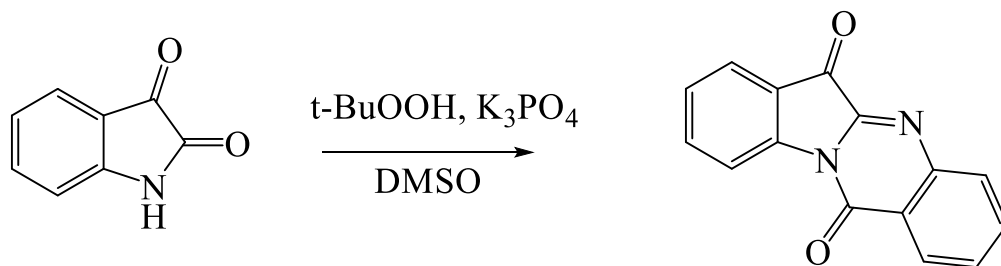
Отримання триптантрину може бути досягнуте реакцією окиснення ізатину йодом з гідроксидом калію в ДМФА [31].



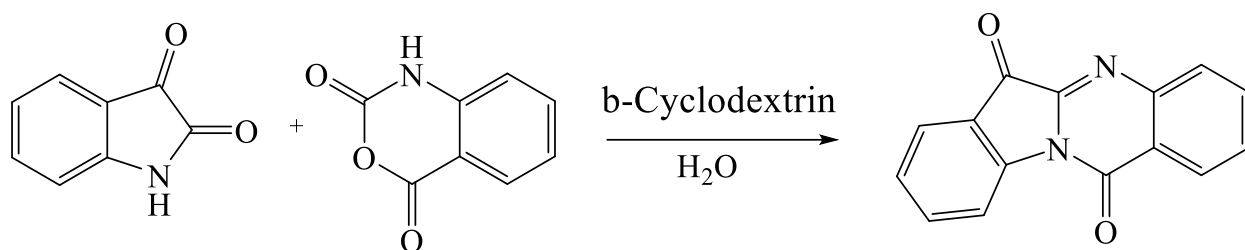
Способом, що може бути використаний для отримання триптантрину та його похідних, є реакція індиго з гідридом натрію та дійодетаном [32].



У статті [33] описан синтез триптантрину з ізатину за допомогою трет-бутилгідропероксиду та калію фосфату.



Автори [Помилка! Закладку не визначено.34] в якості каталізатору конденсації ізатину із ізатовим ангідридом використали  $\beta$ -циклодекстрин, що дозволили проводити цю взаємодію у водному середовищі. Автори висловили гіпотези щодо механізму каталітичної дії декстрину, яка полягає у вигідній передорганізації та поляризації реагентів у складі комплексу гість-хазяїн.



## РОЗДІЛ 2. ЕКСПЕРИМЕНТАЛЬНА ЧАСТИНА

### 2.1. Об'єкти дослідження

Для проведення досліджень об'єктами синтезу були обрані похідні триптантрину а також оксими похідних триптантрину з метою оцінки їхньої біологічної активності у відношенні до інгібування JNK, інтеркаляції ДНК, а також інгібуючої дії на пізню стадію ВІЛ-1 у клітинах НЕК 293. Перед дослідженням біологічної активності отримані зразки проходили аналіз за допомогою мас-спектрометрії та ЯМР-спектроскопії для підтвердження їхньої хімічної структури та чистоти.

### 2.2. Методики синтезу

Мас-спектри сполук 10-24, 36-38 були отримані за допомогою методу електронного удару (ЕУ) на приладі МХ-1320. Для сполук 30-35 мас-спектри були отримані за допомогою методу бомбардування швидкими атомами (БША) на приладі VG70/70.

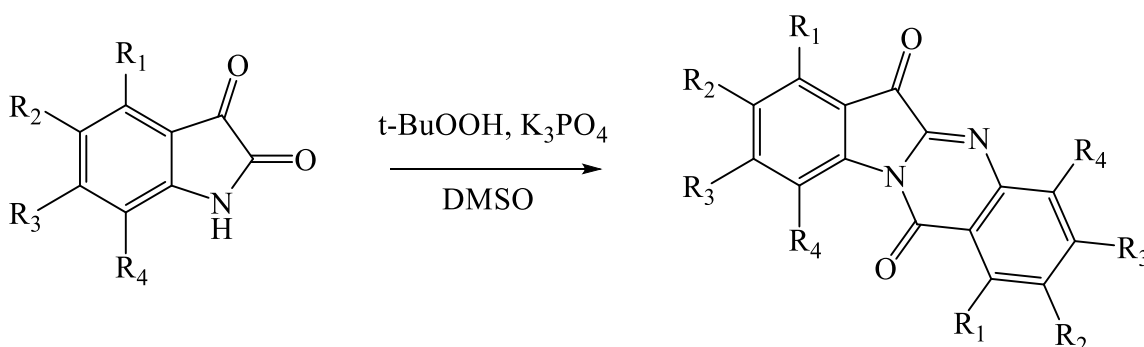
Спектри ЯМР  $^1\text{H}$  сполук 10-16, 21-29, 36, 38 були отримані на приладі «Bruker Avance III 600» з робочою частотою 600 МГц. Рочинник ДМСО-д6.

Спектри ЯМР  $^{13}\text{C}$  сполук 10-16, 21-29, 36, 38 були отримані на приладі «Bruker Avance III 600» з робочою частотою 150 МГц. Рочинник ДМСО-д6.

Дослідження спектральних властивостей проводилось на спектрофлуориметрі Cary Eclipse «Varian».

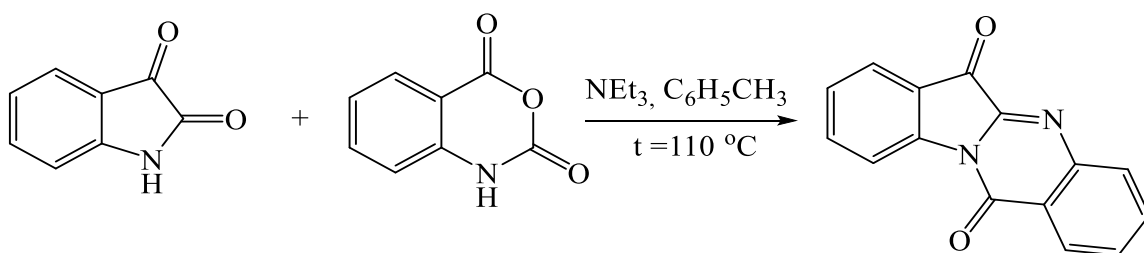
### 2.2.1. Методика синтезу похідних триптантрину

Методика А:



До попередньо подрібненого ізатину (5 ммоль) в бюксі додавали 20 мл ДМСО і нагріли до розчинення ізатину, додали подрібнений фосфат калію (5 ммоль) і після охолодження - трет-бутил гідропероксид (550 мкл 70%). Суміш лишили при кімнатній температурі протягом 20 годин. Повноту перебігу реакції контролювали методом ТШХ (рухома фаза –  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 10:1$ , нерухома фаза – силікагель). Виливали реакційну суміш в 5-ти кратний надлишок води і залишають коагулювали протягом 1-2 год, відфільтровують на фільтрі Шота, промивали водою ( $2 \times 5$  мл) та висушували при  $105^\circ\text{C}$ . У разі необхідності перекристалізували з 1,4-діоксану. Після перекристалізації осад промивали на фільтрі 1,4-діоксаном (5 мл). Методика була застосована для отримання сполук 10-19.

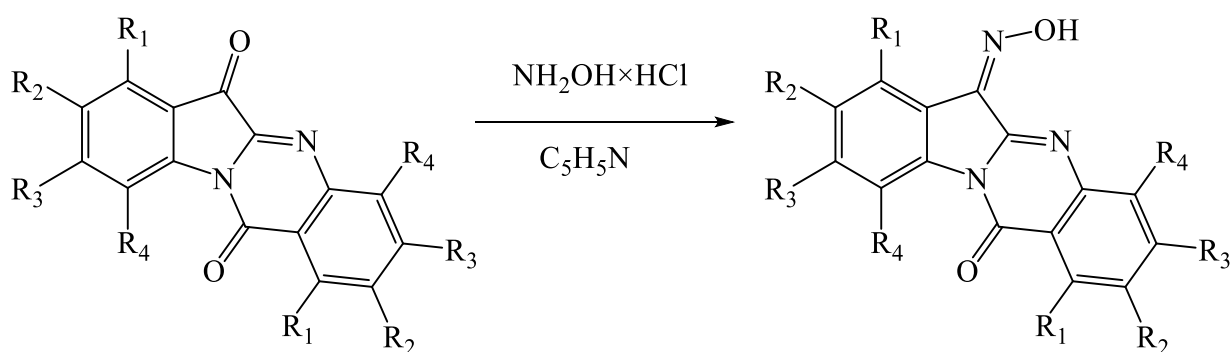
Методика Б



До попередньо подрібненого ізатину (3 ммоль) додавали ізотвий ангідрид (3 ммоль), розчинили при нагріванні зі зворотним холодильником у 50 мл толуену та додали триетиламін (5 ммоль). Реакційну суміш кип'ятили впродовж 2-3 годин. Контроль проведення реакції здійснювали за допомогою тонкошарової хроматографії (рухома фаза –  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH} = 10:1$ ,

нерухома фаза – силікагель). Після завершення реакції та охолодження реакційної суміші випадав осад, який відфільтровували та промивали на фільтрі толуеном (5 мл) та гарячим метанолом ( $2 \times 5$  мл), та у разі необхідності перекристалізовували з 1,4-діоксану. Після перекристалізації осад ще раз промивали на фільтрі метанолом (15 мл). За цією методикою були отримані сполуки 20-22.

### 2.2.2. Методика синтезу оксимів триптантрину



До розчину 1 ммоль триптантрину у 6 мл піридину додавали 3 ммоль гідрохлориду гідроксиламіну. Суміш кип'ятили із зворотним холодильником впродовж 4 годин. Контроль протікання реакції здійснювали за допомогою методу ТШХ (рухома фаза –  $\text{CHCl}_3:\text{MeOH}$  у співвідношенні 10:1, нерухома фаза – силікагель). Надлишок розчинника видаляли у вакуумі, а залишок розчину виливали у 30% розчин  $\text{CH}_3\text{COOH}$ , до досягнення  $\text{pH} = 6-7$ . Білий осад, що утворився, відфільтровували, промивали на фільтрі водою ( $2 \times 5$  мл) та перекристалізовували з 1,4-діоксану (сполуки 23-29).

### 2.2.3. Оптимізація синтезу 7-амінопохідних триптантрину

Оптимізація синтезу полягала у проведенні декількох серій експериментів отримання 7-морфолінотриптантрину для вибору підходящих умов реакції, таких як розчинник і температурний режим.

Для вибору розчинника було проведено 9 синтезів з використанням розчинників різних за полярністю та протонністю та температурою кипіння:

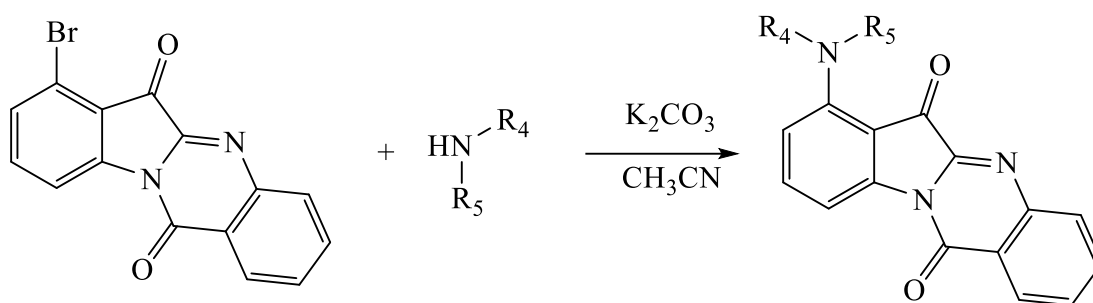
1,4-діоксан, діметилфорамід, діметилсульфоксид, тетрагідрофуран, етилацетат, дихлорметан, ацетонітрил, толуен і ізо-пропанол.

90 мг 7-бромотриптантрину розчинили у 45 мл дихлорметану. Отриманий розчин рівно розподілили по 9 скляним флаконам (що відповідає 10 мг триптантрину на флакон) та видалили розчинник. 3-(диметиламіно)пропіламін (100 мкл) розчинили у 9 мл етилацетату та внесли у 9 пеніцилінових флаконів до триптантрину, та до даних флаконів внесли по 2 мл необхідних розчинників та поташ.

За результатами ТШХ (рухома фаза –  $\text{CHCl}_3$ :ацетон у співвідношенні 10:1, а потім бензол:триетиламін у співвідношенні 10:1, нерухома фаза – силікагель), перебіг синтезів оцінювали за наявністю та площею плями вихідної речовини, цільового продукту а також - побічних продуктів. Пляма вихідної речовини спостерігалась в усіх пробних синтезах, крім синтезу у ДМСО. ТШХ реакційної суміші у середовищі ДМФА і толуолу показала найбільшу кількість побічних продуктів реакції, у той час, коли у ізопропанолі і ДМСО мала найменшу кількість побічних плям на хроматограмі. Співвідношення площини плям цільового продукту до побічних за візуальною оцінкою було найбільшим у ізопропанолі, толуолі та ацетонітрилі.

Для того, щоб обрати температурний режим проведення реакції, було проведено 3 синтези, які проводилися при 25, 100 та 150 °C у ацетонітрилі. За результатами ТШХ (рухома фаза –  $\text{CHCl}_3$ :ацетон у співвідношенні 10:1, а потім бензол:триетиламін у співвідношенні 10:1, нерухома фаза – силікагель), синтез, який проводився за 100 °C мав найменшу кількість побічних продуктів реакції, а синтез при 150 °C мав найбільшу кількість побічних продуктів. Синтез при 25 °C не проходив до кінця.

### 2.2.4. Методика синтезу 7-амінопохідних триптантрину

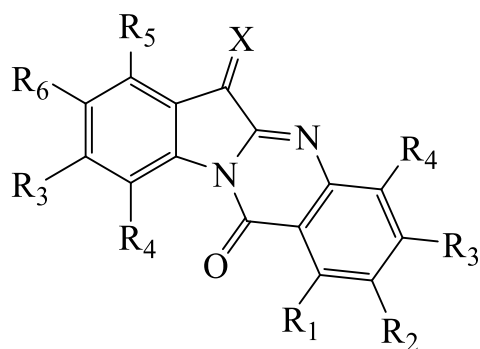


До розчину 327 мг (1 ммоль) 7-бромотриптантрину у 10 мл ацетонітрилу додавали 1,2 ммоль аміну та 138 мг (1 ммоль) поташу. Суміш нагрівали із хлоркальцієвою трубкою впродовж 20 годин при температурі 100°C. Контроль протікання реакції здійснювали за допомогою методу тонкошарової хроматографії (рухома фаза – CHCl<sub>3</sub>:ацетон у співвідношення 10:1, нерухома фаза – силікагель). Реакційну суміш випаровували до 1 мл та виливали в 10-кратний надлишок води і екстрагували CHCl<sub>3</sub> (4×5 мл). Екстракт упарювали та очищали на препаративній хроматографічній колонці (рухома фаза – CHCl<sub>3</sub>:ацетон = 10:1, нерухома фаза – силікагель). Методику використано для отримання сполук 30-38.

### 2.3. Результати синтезу та їх обговорення

Триптантрини, отримані за методикою, описаною у п. 2.2.1-2.2.2, це тверді кристалічні речовини, які можуть бути жовтими, помаранчевими, коричневими або червоними. Отримані речовини за методикою 2.2.1 мають низьку розчинність у більшості органічних розчинників, а також вони не розчиняються у воді, але мають добру розчинність у діоксані та ДМСО. Оксими триптантринів (п. 2.2.2), натомість, представляють собою бліді або блідо-жовті кристали, які дуже погано розчиняються у більшості органічних розчинників і також не розчиняються в воді. Усі амінопохідні триптантрину мають червоне забарвлення та високу розчинність у полярних розчинниках, таких як метанол і діоксан, і мають невисоку розчинність у воді.

З метою відпрацювання методики та нароблення речовини для надання на додаткові дослідження, нами був також проведений ресинтез сполук 20-22, синтезованих раніше Чекалом С.І. у межах його кваліфікаційної роботи.

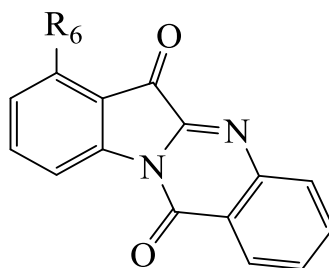


**Таблиця 1**

Список синтезованих триптантринів та їхніх оксимів

Номер сполуки	X	R <sub>1</sub>	R <sub>2</sub>	R <sub>3</sub>	R <sub>4</sub>	R <sub>5</sub>	R <sub>6</sub>
10	O	CH <sub>3</sub>	H	H	H	CH <sub>3</sub>	H
11	O	Br	H	H	H	Br	H
12	O	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	CH <sub>3</sub>
13	O	H	Br	H	H	H	Br
14	O	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	OCH <sub>3</sub>
15	O	H	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	H
16	O	H	H	Br	H	H	H
17	O	H	H	H	CH <sub>3</sub>	H	H
18	O	H	H	H	OCH <sub>3</sub>	H	H
19	O	H	CH <sub>3</sub>	H	Br	H	CH <sub>3</sub>
20	O	H	H	H	H	H	H
21	O	H	H	H	H	Br	H
22	O	H	H	H	H	H	OCH <sub>3</sub>
23	NOH	CH <sub>3</sub>	H	H	H	CH <sub>3</sub>	H
24	NOH	Br	H	H	H	Br	H

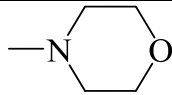
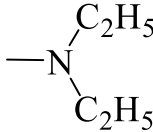
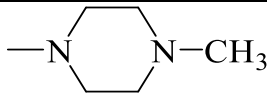
25	NOH	H	CH <sub>3</sub>	H	H	H	CH <sub>3</sub>
26	NOH	H	Br	H	H	H	Br
27	NOH	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	H	OCH <sub>3</sub>
28	NOH	H	H	OCH <sub>3</sub>	H	H	H
29	NOH	H	H	Br	H	H	H



Таблиця 2

## Список 7-амінопохідних трипантрину

Номер сполуки	R <sub>6</sub>
30	
31	
32	
33	
34	
35	

36	
37	
38	

Таблиця 3

## Характеристика отриманих сполук

Номер сполуки	Брутто-формула	Молекулярна маса, г/моль	Вихід ( $\eta$ ) реакції, %	Температура плавлення, $^{\circ}\text{C}$
10	$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$	276.30	8	290
11	$\text{C}_{15}\text{H}_6\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2$	406.04	21	>300
12	$\text{C}_{15}\text{H}_6\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2$	406.04	25	310
13	$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$	276.30	20	189
14	$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4$	308.30	29	260
15	$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4$	308.30	62	>300
16	$\text{C}_{15}\text{H}_6\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2$	406.04	38	>300
17	$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_2$	276.30	0	–
18	$\text{C}_{17}\text{H}_{12}\text{N}_2\text{O}_4$	308.30	0	–
19	$\text{C}_{17}\text{H}_{10}\text{Br}_2\text{N}_2\text{O}_2$	434.09	0	–
20	$\text{C}_{15}\text{H}_8\text{N}_2\text{O}_2$	248.24	65	266
21	$\text{C}_{15}\text{H}_7\text{BrN}_2\text{O}_2$	327.14	75	>300
22	$\text{C}_{16}\text{H}_{10}\text{N}_2\text{O}_3$	278.27	67	265
23	$\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2$	291.31	59	190
24	$\text{C}_{15}\text{H}_7\text{Br}_2\text{N}_3\text{O}_2$	421.05	21	>300
25	$\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_2$	291.31	59	>300
26	$\text{C}_{15}\text{H}_7\text{Br}_2\text{N}_3\text{O}_2$	421.05	56	250
27	$\text{C}_{17}\text{H}_{13}\text{N}_3\text{O}_4$	323.31	85	262

28	$C_{17}H_{13}N_3O_4$	323.31	30	292
29	$C_{15}H_7Br_2N_3O_2$	421.05	38	>300
30	$C_{20}H_{20}N_4O_2$	348.41	5	216
31	$C_{22}H_{24}N_4O_2$	376.46	t	–
32	$C_{22}H_{22}N_4O_3$	390.45	t	–
33	$C_{21}H_{22}N_4O_2$	362.44	t	–
34	$C_{21}H_{20}N_4O_3$	376.42	t	–
35	$C_{21}H_{20}N_4O_3$	376.42	t	–
36	$C_{19}H_{15}N_3O_3$	333.35	73	238
37	$C_{19}H_{17}N_3O_2$	319.37	t	–
38	$C_{20}H_{18}N_4O_2$	346.39	60	183

t-вихід менше 5%

0 - не успішний синтез, що підтверджується на ТШХ

«↔» - немає інформації

У результатах проведених синтезів було констатовано, що синтез сполук 17-19 не був успішним, що може пояснюватись стеричними фактором.

**Таблиця 4**

Величини  $R_f$  для синтезованих сполук

Номер сполуки	Елюент		
	Хлороформ	Хлороформ:ацетон (10:1)	Бензол:триетиламін (10:1)
10	0.36	0.63	–
11	0.34	0.68	–
12	0.38	0.71	–
13	0.41	0.75	–
14	0.21	0.67	–
15	0.21	0.62	–
16	0.42	0.83	–
20	0.30	0.58	–

21	0.30	0.62	–
22	0.28	0.55	–
23	0.00	0.86	–
24	0.37	0.76	–
25	0.03	0.38	–
26	0.03	0.39	–
27	0.00	0.26	–
28	0.00	0.22	–
29	0.35	0.60	–
30	0.00	0.00	0.21
31	0.00	0.00	0.61
32	0.00	0.00	0.45
33	0.00	0.00	0.19
34	0.00	0.00	0.62
35	0.00	0.00	0.40
36	0.19	0.35	0.42
37	0.19	0.51	0.40
38	0.00	0.00	0.13

«←» не проводились дослідження в данному елюенті

При моніторингу проходження синтезу речовини 30 та 37 за допомогою ТШХ було помічено утворення побічного продукту (Продукт «А»), який мав більший  $R_f$  ніж цільові речовини в елюенті хлороформ а також хлороформ:ацетон (10:1). На ТШХ пляма продукту «А» мала червоний колір у видимому світлі та червону флуоресценцію при  $\lambda_{ex}=360$  нм.

Для сполуки 36 було зафіксоване утворення іншої побічної речовини синього кольору (Продукт «Б»), яка мала більший  $R_f$  ніж цільова речовина в системі хлороформ і хлороформ:ацетон (10:1) на силікагелі (див рис.Рис.2.) . Було виявлено, що ця речовина з часом перетворюється в цільову речовину.

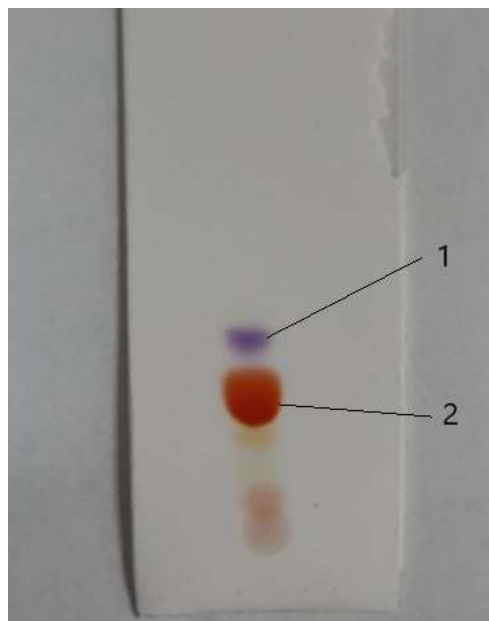


Рис.2. Тонкошарова хроматографія реакційної суміші синтезу сполуки 36 (1 – продукт «Б», 2 - цільова речовина)

Докладніше про можливу структуру побічних плям буде розглянуто в розділі 2.4.1.

## 2.4. Підтвердження хімічної будови

### 2.4.1. Дослідження за допомогою мас-спектроскопії

Результати наведені у *табл. 5*

**Таблиця 5**

#### Результати маспектроскопії

Номер сполуки	Метод	Молекулярна маса, г/моль	M/z (I, %)
10	ЕУ	276.30	276 (100), 248 (20)
11	ЕУ	406.04	404/406/408 (95/100/95), 376/378/380 (15/20/15)
12	ЕУ	276.30	276 (100), 248 (30)
13	ЕУ	406.04	404/406/408 (95/100/95), 376/378/380 (15/20/15)

14	ЕУ	308.30	308 (100), 293 (40)
15	ЕУ	308.30	308 (100)
16	ЕУ	406.04	404/406/408 (95/100/95), 376/378/380 (20/30/20)
20	ЕУ	248.24	248(100), 220(50), 192(30)
21	ЕУ	327.14	328/326 (100/100), 300/298 (30/30)
22	ЕУ	278.26	278(100), 263(50), 235(30)
23	ЕУ	291.31	291 (100), 274 (40), 262 (30)
24	ЕУ	421.05	419/421/423 (50/100/50), 379/391/393 (30/50/30)
25	ЕУ	291.31	291 (100), 275 (60), 261 (70)
26	ЕУ	421.05	419/421/423 (50/100/50), 379/391/393 (20/50/20)
27	ЕУ	323.31	323 (100), 307 (50), 293 (40), 278 (20)
28	ЕУ	323.31	323 (100), 307 (60), 293 (60), 278 (15)
29	ЕУ	421.05	419/421/423 (50/100/50), 403/405/407 (25/45/25), 379/391/393 (30/60/30)
30	БША	348.41	371 (5), 349 (40)
31	БША	376.46	377(100), 399(15)
32	БША	390.45	391 (40), 413(10)
33	БША	334.38	335(100), 357(10)
34	БША	362.44	363(30)
35	БША	376.42	377(30)
36	ЕУ	333.35	333(100), 305(20), 277(70)
37	ЕУ	319.37	319(80), 291(100), 263(10)
38	ЕУ	346.39	346(50)

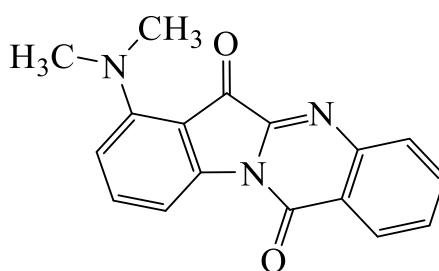
Для сполук 10-16, 20-22, 36-38 у спектрах ЕУ спостерігається інтенсивний пік молекулярного йону. Також у кожному спектрі

спостерігається пік йону  $[M-28]^+$ , що вказує на відщеплення карбонільної групи, ймовірно - у вигляді CO.

Для сполук 23-29 в спектрах ЕУ спостерігається пік молекулярного йону. Також з різною інтенсивністю спостерігаються піки фрагментарних йонів, наприклад, часто зустрічаються піки  $[M-16]^+$  так як при проходженні оксиму в маспектрометрі створюються умови піролізу під час якого оксим триптантрину перетворюється у відповідний імін [35]. Також з різною інтенсивністю для різних оксимів спостерігаються піки відщеплення NO з утворенням йону  $[M-30]^+$ .

Для речовин 30-35 в спектрах БША спостерігається пік  $[M+1]^+$ , що вказує на протонування молекулярного йону. Крім того, з різною інтенсивністю спостерігаються піки  $[M+23]^+$ , що вказує на утворення комплексу з катіоном натрію.

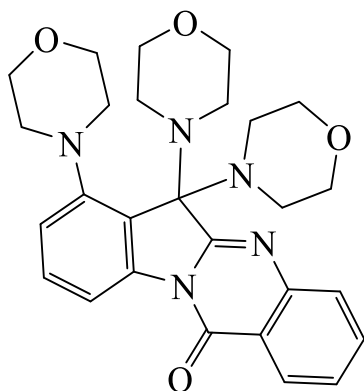
Методами хроматографії також були виділені побічні продукти «А» з синтезів сполук 30, 37 та зареєстровані їхні мас-спектри методом ЕУ. За наявності на спектрах сигналів іонів із  $m/z = 291$  та  $m/z = 277$ , та продуктів їхньої фрагментації, а також відсутності сигналів бромовмісних сполук, нами було зроблене припущення про ймовірну будову такої побічної речовини. Сполука 39 з молекулярною масою 291 г/моль.



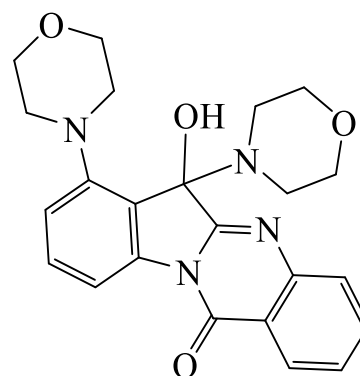
Сполука 39

Також, з синтезу сполуки 36 була виділена побічна речовина «Б», синього кольору та вивчена за допомогою мас-спектрометрії методом БША. За результатами мас-спектрометрії зроблений висновок про наявність щонайменше двох речовин із схожими будовами, які можуть взаємно трансформуватися одна в іншу. Наведені ймовірні структури таких речовин,

які добре узгоджується із їхніми фізико-хімічними властивостями (рухливість на ТШХ, зміна кольору, перетворення на відповідні кетони із часом, фрагментація в умовах мас-спектрометрії). Нажаль, кількість виділеної речовини не дозволила зробити більш розширені дослідження структури.



489 г/моль



420 г/моль

#### 2.4.2. Дослідження за допомогою спектроскопії ЯМР $^1\text{H}$

Спектри ЯМР  $^1\text{H}$  були зроблені у ДМСО- $d_6$ . На спектрах ЯМР  $^1\text{H}$  всіх синтезованих сполук спостерігаються сигнали ароматичних протонів в характерній для них області діапазону хімічних зсувів. Усі з цих сигналів мають складний характер розщеплення.

Також на спектрі спостерігається очікуваний сигнал для протону, що міститься в оксимній гідроксильній групі у характерній для нього області діапазону слабких полів у вигляді дещо розширеного синглету. Примітно, що за даними ЯМР-спектроскопії синтезовані оксими представлені тільки у вигляді одного з ймовірних геометричних ізомерів.

Таблиця 6

Результати аналізу спектрів ЯМР  $^1\text{H}$  триптантринів

Номер сполуки	Хімічний зсув ( $\delta$ ), ppm
10	2.62 (3H, s), 2.87 (3H, s), 7.24 (1H, d, $J = 7.7$ Hz), 7.47 (1H, m), 7.68 (1H, dd, $J_1 = 7.8$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz), 7.74 (2H, m), 8.32 (1H, d, $J = 8.1$ Hz).
11	7.67 (1H, d, $J = 8.2$ Hz), 7.73 (1H, dd, $J_1 = 7.9$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz), 7.78 (1H, dd, $J_1 = 7.9$ Hz, $J_2 = 7.9$ Hz), 7.96 (2H, m), 8.52 (1H, d, $J = 7.9$ Hz).
12	2.39 (3H, s), 2.51 (3H, s), 7.65 (2H, m), 7.74 (1H, dd, $J_1 = 8.2$ Hz, $J_2 = 1.8$ Hz), 7.82 (1H, d, $J = 8.3$ Hz), 8.09 (1H, d, $J = 1.8$ Hz), 8.33 (1H, d, $J = 8.1$ Hz).
13	7.91 (1H, d, $J = 8.4$ Hz), 8.05 (1H, dd, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 2.0$ Hz), 8.08 (1H, d, $J = 2.0$ Hz), 8.13 (1H, dd, $J_1 = 8.5$ Hz, $J_2 = 2.3$ Hz), 8.38 (1H, d, $J = 8.7$ Hz), 8.41 (1H, d, $J = 2.4$ Hz).
14	3.86 (3H, s), 3.95 (3H, s), 7.38 (1H, d, $J = 2.7$ Hz), 7.42 (1H, dd, $J_1 = 8.6$ Hz, $J_2 = 2.7$ Hz), 7.51 (1H, dd, $J_1 = 8.8$ Hz, $J_2 = 2.9$ Hz), 7.7 (1H, d, $J = 3.0$ Hz), 7.87 (1H, d, $J = 9.0$ Hz), 8.37 (1H, d, $J = 8.7$ Hz).
15	3.94 (3H, s), 3.97 (3H, s), 6.97 (1H, dd, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 2.2$ Hz), 7.29 (1H, dd, $J_1 = 8.8$ Hz, $J_2 = 2.5$ Hz), 7.42 (1H, d, $J = 2.5$ Hz), 7.82 (1H, d, $J = 8.5$ Hz), 7.99 (1H, d, $J = 2.2$ Hz), 8.2 (1H, d, $J = 8.8$ Hz).
16	7.72 (1H, dd, $J_1 = 8.1$ Hz, $J_2 = 1.6$ Hz), 7.84 (1H, d, $J = 8.1$ Hz), 7.93 (1H, dd, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 1.8$ Hz), 8.22 (2H, m), 8.6 (1H, d, $J = 1.7$ Hz).
20	7.49 (dd, 1H, $J_1 = J_2 = 7.2$ Hz), 7.75 (m, 1H), 7.89 (m, 2H), 7.96 (d, 2H, $J = 4.2$ Hz), 8.33 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz), 8.50 (d, 1H, $J = 7.8$ Hz).
21	7.64 (dd, $J_1 = 7.8$ Hz, $J_2 = 7.8$ Hz, 1H), 7.83 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 7.88 (dd, $J_1 = 8.4$ Hz, $J_2 = 2.4$ Hz, 1H), 7.91 (dd, $J_1 = 7.8$ Hz, $J_2 = 7.5$ Hz, $J_3 = 1.8$ Hz, 1H), 8.30 (dd, $J_1 = 7.8$ Hz, $J_2 = 1.8$ Hz, 1H), 8.47 (m, 2H).
22	3.88 (s, 3H), 7.42 (m, 2H), 7.41 (m, 1H), 7.94 (d, $J = 4.2$ Hz, 2H), 8.31 (d, $J = 7.8$ Hz, 1H), 8.38 (d, $J = 9.0$ Hz, 1H).

23	2.60 (s, 3H); 2.90 (s, 3H); 7.25 (d, J = 7.7 Hz, 1H); 7.43 (d, J = 7.7 Hz, 1H); 7.46 (dd, J <sub>1</sub> = J <sub>2</sub> = 7.9 Hz, 1H); 7.695 (d, J = 7.9 Hz, 1H); 7.74 (dd, J <sub>1</sub> = J <sub>2</sub> = 7.7 Hz, 1H); 8.40 (d, J = 8.0 Hz, 1H); 13.67 (s, 1H).
24	7.495 (dd, J <sub>1</sub> = J <sub>2</sub> = 8.0 Hz, 1H); 7.665 (dd, J <sub>1</sub> = 0.7 Hz, J <sub>2</sub> = 8.0 Hz, 1H); 7.735 (dd, J <sub>1</sub> = J <sub>2</sub> = 8.0 Hz, 1H); 7.860 (dd, J <sub>1</sub> = 1.1 Hz, J <sub>2</sub> = 8.0 Hz, 1H); 7.895 (dd, J <sub>1</sub> = 1.1 Hz, J <sub>2</sub> = 8.0 Hz, 1H); 8.575 (d, J = 0.7 Hz, 1H); 14.03 (s, 1H).
25	2.60 (s, 3H); 2.90 (s, 3H); 7.25 (d, J = 7.7 Hz, 1H); 7.43 (d, J = 7.7 Hz, 1H); 7.46 (dd, J <sub>1</sub> = J <sub>2</sub> = 7.9 Hz, 1H); 7.695 (d, J = 7.9 Hz, 1H); 7.74 (dd, J <sub>1</sub> = J <sub>2</sub> = 7.7 Hz, 1H); 8.40 (d, J = 8.0 Hz, 1H); 13.67 (s, 1H).
26	7.773 (d, J = 8.6 Hz, 1H); 7.883 (dd, J <sub>1</sub> = 2.1 Hz, J <sub>2</sub> = 8.6 Hz, 1H); 8.055 (dd, J <sub>1</sub> = 2.4 Hz, J <sub>2</sub> = 8.7 Hz, 1H); 8.36 (d, J = 2.4 Hz, 1H); 8.45 (d, J = 8.7 Hz, 1H); 8.475 (d, J = 2.1 Hz, 1H); 14.022 (s, 1H).
27	3.844 (s, 1H); 3.9 (s, 1H); 7.22 (dd, J <sub>1</sub> = 2.7 Hz, J <sub>2</sub> = 8.8 Hz, 1H); 7.465 (dd, J <sub>1</sub> = 2.9 Hz, J <sub>2</sub> = 8.8 Hz, 1H); 7.650 (d, J = 2.9 Hz, 1H); 7.743 (d, J = 8.8 Hz, 1H); 7.890 (d, J = 2.7 Hz, 1H); 8.420 (d, J = 8.8 Hz, 1H); 13.6 (s, 1H).
28	3.90 (s, 3H); 3.935 (s, 3H); 6.98 (dd, J <sub>1</sub> = 2.4 Hz, J <sub>2</sub> = 8.8 Hz, 1H); 7.190 (dd, J <sub>1</sub> = 2.5 Hz, J <sub>2</sub> = 8.7 Hz, 1H); 7.268 (d, J = 2.5 Hz, 1H); 8.093 (d, J = 2.4 Hz, 1H); 8.165 (d, J = 8.8 Hz, 1H); 8.257 (d, J = 8.7 Hz, 1H); 13.287 (s, 1H).
29	7.68 (dd, J <sub>1</sub> = 2.0 Hz, J <sub>2</sub> = 8.4 Hz, 1H); 7.79 (dd, J <sub>1</sub> = 2.0 Hz, J <sub>2</sub> = 8.4 Hz, 1H); 8.034 (d, J = 1.8 Hz, 1H); 8.185 (d, J = 8.4 Hz, 1H); 8.27 (d, J = 8.4 Hz, 1H); 8.645 (d, J = 1.8 Hz, 1H); 13.91 (s, 1H).
36	8.95 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.94 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.87 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.82 (t, J = 8 Hz, 1H), 7.59 (t, J = 8 Hz, 1H), 7.51 (t, J = 8 Hz, 1H), 6.80 (d, J = 8 Hz, 1H), 3.98-3.95 (m, 4H), 3.45-3.42 (m, 4H);
38	8.50 (d, J = 8 Hz, 1H), 8.07 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.95 (d, J = 8 Hz, 1H), 7.94 (t, J = 8 Hz, 1H), 7.63-7.60 (m, 2H), 6.79 (d, J = 8 Hz, 1H), 3.66-3.49 (m,

	4H), 3.06 (s, 4H), 2.63 (s, 3H);
--	----------------------------------

### 2.4.3. Дослідження за допомогою спектроскопії ЯМР $^{13}\text{C}$

Спектри ЯМР  $^{13}\text{C}$  триптантринів узгоджуються з будовою сполук. Доведена кількість атомів Карбону у всіх сполуках, усі сигнали знаходяться в характерній області полів.

**Таблиця 7**

Результати аналізу спектрів ЯМР  $^{13}\text{C}$  оксимів триптантринів

Номер сполуки	Хімічний зсув ( $\delta$ ), ppm
10	17.7, 22.6, 114.5, 119.9, 121.4, 128.2, 128.6, 132.4, 134.0, 136.9, 139.7, 141.4, 144.5, 146.3, 148.0, 158.5, 183.1.
11	116.2, 119.6, 120.5, 121.0, 121.5, 130.2, 131.2, 135.4, 136.2, 138.3, 144.7, 147.6, 148.9, 155.9, 179.9.
12	20.4, 21.0, 116.8, 122.3, 123.1, 124.7, 126.4, 129.7, 136.1, 136.6, 138.0, 140.2, 143.9, 144.4, 144.5, 157.4, 182.4.
13	118.9, 119.4, 123.0, 124.2, 124.7, 127.1, 129.1, 132.0, 138.2, 139.7, 144.5, 145.1, 145.5, 156.5, 180.9
14	61.2, 113.4, 113.6, 123.5, 128.6, 128.9, 130.1, 136.9, 137.0, 145.0, 145.7, 148.8, 162.1, 163.2, 165.6, 187.4.
15	55.9, 56.4, 103.0, 111.9, 113.6, 115.1, 116.6, 119.0, 127.3, 128.8, 146.0, 148.9, 149.1, 157.9, 165.0, 168.0, 180.3.
16	120.2, 121.9, 122.6, 126.8, 129.3, 129.4, 130.5, 131.4, 132.6, 133.4, 146.4, 146.9, 148.1, 157.9, 181.7.
20	117.50; 122.71; 123.78; 125.19; 127.36; 127.41; 130.32; 130.38; 135.63; 138.22; 145.51; 146.46; 146.93; 158.19; 182.93
21	120.8, 122.5, 126.6, 127.3, 128.8, 129.0, 131.9, 133.4, 135.8, 145.5, 148.4, 151.7, 160.6, 187.4.

22	56.51; 108.95; 118.72; 123.86; 123.89; 124.22; 127.28; 130.30; 130.37; 135.44; 140.40; 145.85; 146.91; 157.77; 158.47; 182.83
23	66.8, 114.5, 120.5, 120.7, 127.3, 128.8, 130.7, 131.5, 134.2, 135.0, 139.7, 141.4, 143.4, 144.9, 148.9, 159.5.
24	116.6, 119.6, 120.6, 120.9, 121.5, 130.4, 131.4, 135.6, 136.5, 137.5, 138.1, 144.7, 148.5, 155.9, 180
25	66.8, 114.5, 120.5, 120.7, 127.3, 128.8, 130.7, 131.5, 134.2, 135.0, 139.7, 141.4, 143.4, 144.9, 148.9, 159.5.
26	118.6, 119.3, 120.7, 121.1, 123.6, 129.1, 129.8, 130.1, 135.1, 138.1, 138.6, 143.8, 146.5, 148.9, 157.8.
27	56.2, 107.5, 113.1, 117.7, 120.5, 123.0, 124.0, 130.3, 133.4, 141.7, 144.5, 146.8, 158.1, 158.2, 159.0.
28	56.3, 56.4, 103.0, 110.2, 112.0, 112.5, 115.2, 117.2, 128.6, 129.2, 141.6, 144.2, 149.7, 150.0, 158.7, 162.4, 164.8.
29	118.4, 119.4, 121.0, 125.1, 128.7, 129.0, 129.2, 129.4, 130.1, 130.8, 131.1, 140.5, 144.1, 148.6, 158.6.
36	52.4, 53.3, 65.8, 66.3, 113.2, 113.7, 119.5, 120.8, 126.6, 126.7, 127.3, 133.4, 135.6, 145.5, 147.1, 151.7, 151.7, 160.6, 187.4.
38	46.6, 52.0, 54.8 57.2, 58.5, 113.2, 113.2, 119.5, 120.8, 126.4, 126.7, 127.3, 133.4, 135.6, 145.5, 147.1, 151.6, 151.9, 160.6, 187.4.

#### 2.4.4. Дослідження спектральних властивостей речовини 38

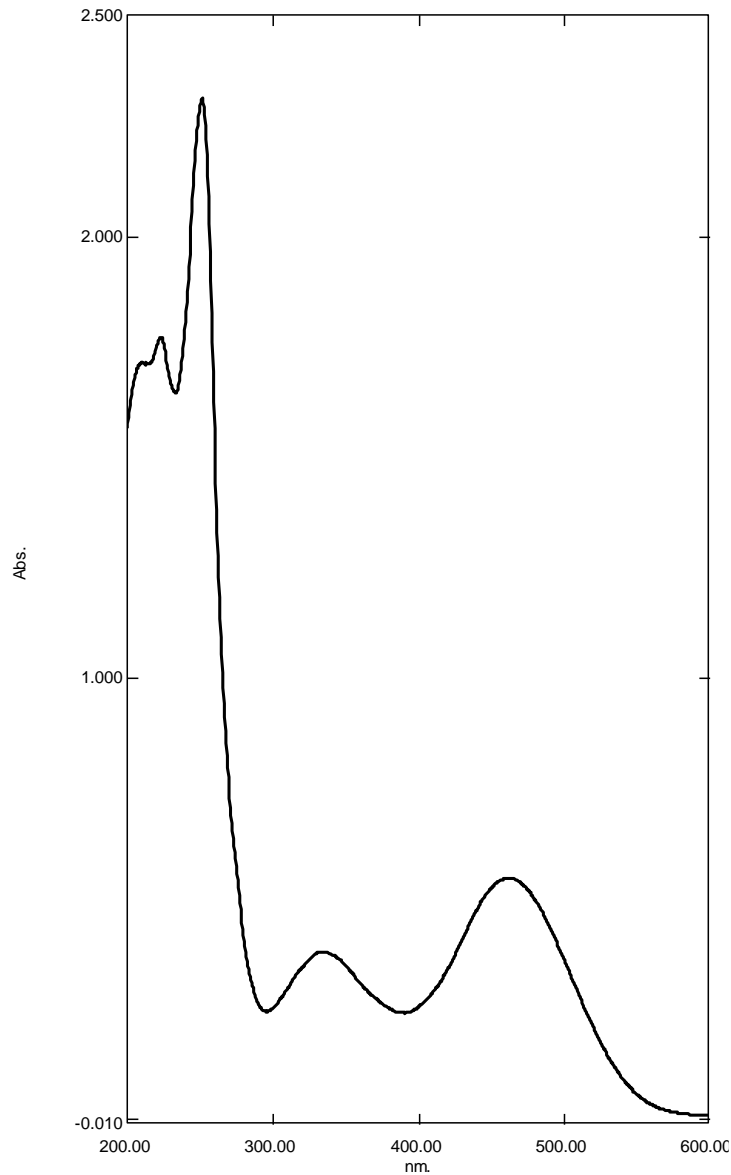


Рис.3. Спектр поглинання речовини 38

На наведеному спектрі спостерігається 3 максимуми поглинання: 462, 333 та 251 нм. Це робить доцільним реєстрацію спектрів флуоресценції речовини 38 при вказаних трьох довжинах хвиль, відповідних максимуму поглинання. Так як спектри флуоресценції не відрізняються в залежності від довжини хвилі збудження, спектр флуоресценції речовини 38 при  $\lambda_{ex}=460$  нм наведений на рис.Рис.4. Спектр флуоресценції речовини 38 при  $\lambda_{ex}=460$  нм нижче:

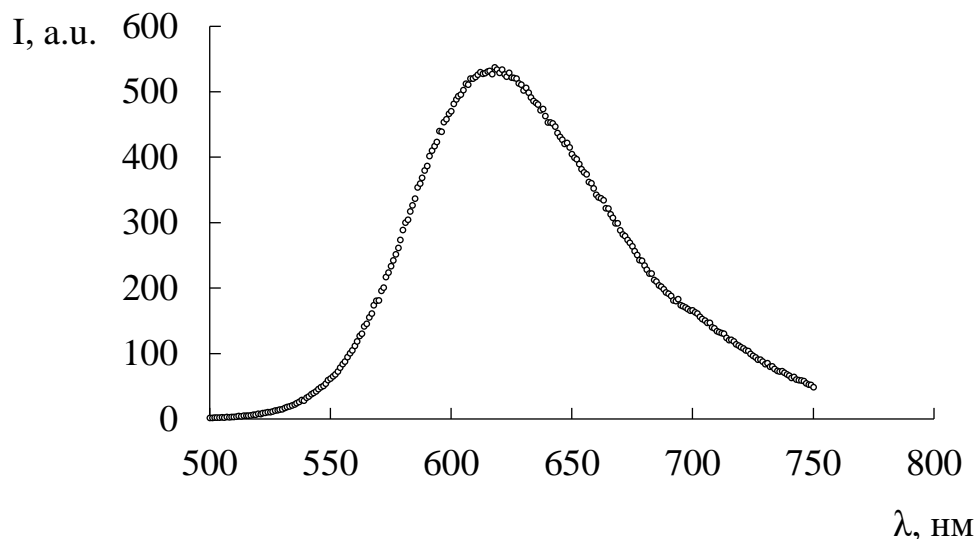


Рис.4. Спектр флуоресценції речовини 38 при  $\lambda_{\text{ex}}=460$  нм

## 2.5. Результати біологічних досліджень

### 2.5.1. Цитотоксичність на клітинах THP-1Blue

Клітини обробляли досліджуваною сполукою та культивували протягом 24 год. Після обробки у клітини додавали субстрат і вимірювали люмінесценцію за допомогою Fluoroscan Ascent FL. Значення  $IC_{50}$  для клітин розраховували шляхом побудови графіка відсотка інгібування від логарифма концентрації інгібітора [36]. Результати дослідження наведені в *табл. Помилка! Джерело посилання не знайдено.*

### 2.5.2. Активація AP-1/NF-κB

Активацію AP-1/NF-κB вимірювали за допомогою аналізу репортерного гена лужної фосфатази в клітинах THP1-Blue. Клітини THP-1Blue ( $2 \cdot 10^5$  клітин/лунку) попередньо обробляли досліджуваною сполукою або ДМСО (кінцева концентрація 1%) протягом 30 хвилин, після чого додавали 250 нг/мл ліпополісахариду (ЛПС) протягом 24 годин, і активність лужної фосфатази вимірювали в супернатантах (рідина, яка лишається після осадження) клітин за допомогою суміші QUANTI-Blue (розчин для колориметричного ферментного аналізу) з поглинанням при 655 нм і порівнювали зі зразками позитивного контролю (ЛПС). Були розраховані

концентрації сполуки, які викликали 50% інгібування активності репортера AP-1/NF-κB (IC<sub>50</sub>) [36]. Результати дослідження наведені в *табл.Помилка!*  
*Джерело посилання не знайдено.*

### 2.5.3. Афінітет похідних триптантрину до JNK

Сполуки подавали для визначення константи дисоціації (K<sub>d</sub>) за допомогою програмного забезпечення KINOMEscan. Кінази вироблялися та демонструвалися на фагах T7 або експресувалися в клітинах НЕК-293. Реакції зв'язування проводили при кімнатній температурі протягом 1 години, і фракцію кінази, не зв'язаної з досліджуваною сполукою, визначали шляхом захоплення іммобілізованим афінним лігандом і кількісно визначали за допомогою кількісної полімеразної ланцюгової реакції. Первинний скринінг при фіксованих концентраціях сполук проводили у двох повторах. Для визначення константи дисоціації K<sub>d</sub> використовували 12-точкову серію напівлогарифмічних розведень (максимальна концентрація 33 мкМ). Аналізи проводили в двох примірниках, і відображалось їхнє середнє значення [36]. Результати дослідження наведені в *табл.Помилка!* *Джерело посилання не знайдено.*

**Таблиця 8**

Номер сполуки	Цитотоксичність THP1-Blue (IC <sub>50</sub> (μM))	THP1-Blue cells (AP prod., IC <sub>50</sub> (μM))	JNK3 (K <sub>d</sub> (μM))
23	токсичності не виявлено	активності не виявлено	активності не виявлено
24	токсичності не виявлено	активності не виявлено	активності не виявлено
25	токсичності не виявлено	8.1 ± 0.1	0.87 ± 0.16
26	токсичності не виявлено	1.3 ± 0.1	3.2 ± 1.1
27	токсичності не виявлено	5.4 ± 1.7	6.6 ± 0.3
28	8.3 ± 1.3	1.3 ± 0.1	3.2 ± 1.1

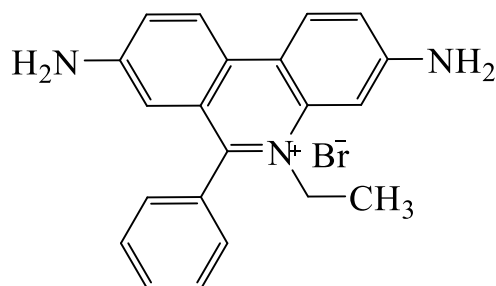
29	59.1 ± 8.3	7.9 ± 2.1	активності не виявлено
----	------------	-----------	------------------------

Біологічні дослідження у п.2.5.1–2.5.3 були проведені в Університеті штату Монтана.

Дві сполуки (28, 29) були цитотоксичними на клітинній лінії THP1-Blue, через що не можуть розглядатися у подальшій інтерпретації результатів. Сполуки 23, 24 не мали активності у пригніченні продукування лужної фосфатази і зв'язуванні з JNK3, тому розглядатися не будуть. Серед сполук, які задовольняють попереднім вимогам (25, 26, 27), сполука 26 мала найменше значення AP prod., IC<sub>50</sub> і задовільне значення K<sub>d</sub>. З наведених вище результатів можна помітити, що значення AP prod., IC<sub>50</sub> і константи дисоціації з JNK3 не корелюють між собою, через що можна зробити висновок, що JNK3 це не єдина мішень для похідних триптантрину. На основі таких припущень нами було висунуто гіпотезу, що іншою клітинною мішенню похідних триптантрину може бути ДНК.

#### 2.5.4. Афінітет до ДНК сполуки 38

Досліджувана сполука 38 конкурувала з бромідом етидію (Сполука 40) за місця зв'язування у ДНК, що призводило до зменшення інтенсивності флуоресценції інтеркальованої форми.



Сполука 40

Основним параметром для визначення афінітету є та концентрація ліганду, яка призводить 50% зниження інтенсивності флуоресценції етидію броміду. За допомогою цього показника обчислюється константа асоціації сполуки з ДНК.

#### 2.5.4.1. Приготування вихідних концентрованих розчинів

Розчиняють 0.014 г ДНК селезінки великої рогатої худоби у 100 см<sup>3</sup> води (одержують р–н “1”). Розчиняють 2.18 г NaCl у 100 см<sup>3</sup> води (одержують р–н “2”). Розчиняють 0.144 г ЕДТА у 100 см<sup>3</sup> води (одержують р–н “3”). Розчиняють 0.02 г етидію броміду у 100 см<sup>3</sup> води; одержують розчин з концентрацією  $2.536 \cdot 10^{-4}$  М (р–н “4”).

#### 2.5.4.2. Приготування концентрованого буферного розчину (р–н “5”)

Розчиняють у склянці на 50 см<sup>3</sup> 1.64 г безводного ацетату натрію в 20 см<sup>3</sup> води і додають по краплях розведену водою (1:3) оцтову кислоту до рН = 5,5 (контролюють рН за допомогою повіреного й відкаліброваного рН–метра). Вміст склянки кількісно переносять у мірну колбу на 1000 см<sup>3</sup> і доводять водою до відмітини.

#### 2.5.4.3. Приготування концентрованого робочого розчину “А”

Вносять у мірну колбу на 500 см<sup>3</sup> 50 см<sup>3</sup> розчину “1”, 50 см<sup>3</sup> розчину “2”, 50 см<sup>3</sup> розчину “3”, 50 см<sup>3</sup> розчину “4” та 200 см<sup>3</sup> розчину “5”. Доводять водою до відмітки.

#### 2.5.4.4. Приготування розведеного робочого розчину “А”

До мірної колби об’ємом 100 см<sup>3</sup> додають 50 см<sup>3</sup> розчину “А” та доводять водою до відмітки.

#### 2.5.4.5. Приготування розчину ліганду

Розчиняють  $15 \pm 5$  мг досліджуваної сполуки у 5 см<sup>3</sup> дистильованої води.

#### 2.5.4.6. Приготування робочих розчинів ліганду

У 13 пробірок (№№ 1 – 13) додають 3 см<sup>3</sup> розчину “А”. У пробірку № 14 додають 3 см<sup>3</sup> розчину “А” та 3 см<sup>3</sup> розчину ліганду. Послідовним логарифмічним розведенням вмісту пробірки № 14 у пробірках №№ 1 – 13 отримують набір розчинів із сталою концентрацією ДНК, етидію броміду, буферних компонентів та із змінною (у діапазоні  $10^{-2}$  –  $10^{-6}$  М) концентрацією досліджуваної речовини.

#### 2.5.4.7. Проведення вимірів

У кювету спектрофлуориметру почергово поміщують по 2 см<sup>3</sup> досліджуваних розчинів з пробірок №№ 1 – 14 та реєструють спектри флуоресценції в інтервалі довжин хвиль 550 – 800 нм ( $\lambda_{\text{збудж}} = 535$  нм). При вірній постановці експерименту декілька перших та декілька останніх спектрів накладаються один на інший. Типова картинка розташування спектрів наведена на прикладі спектрів вітиснення етидію броміду сполукою 38 на рисунку рис.Рис.5. Зниження флуоресценції комплексу ДНК-етидій бромід при підвищенні концентрації сполуки 38

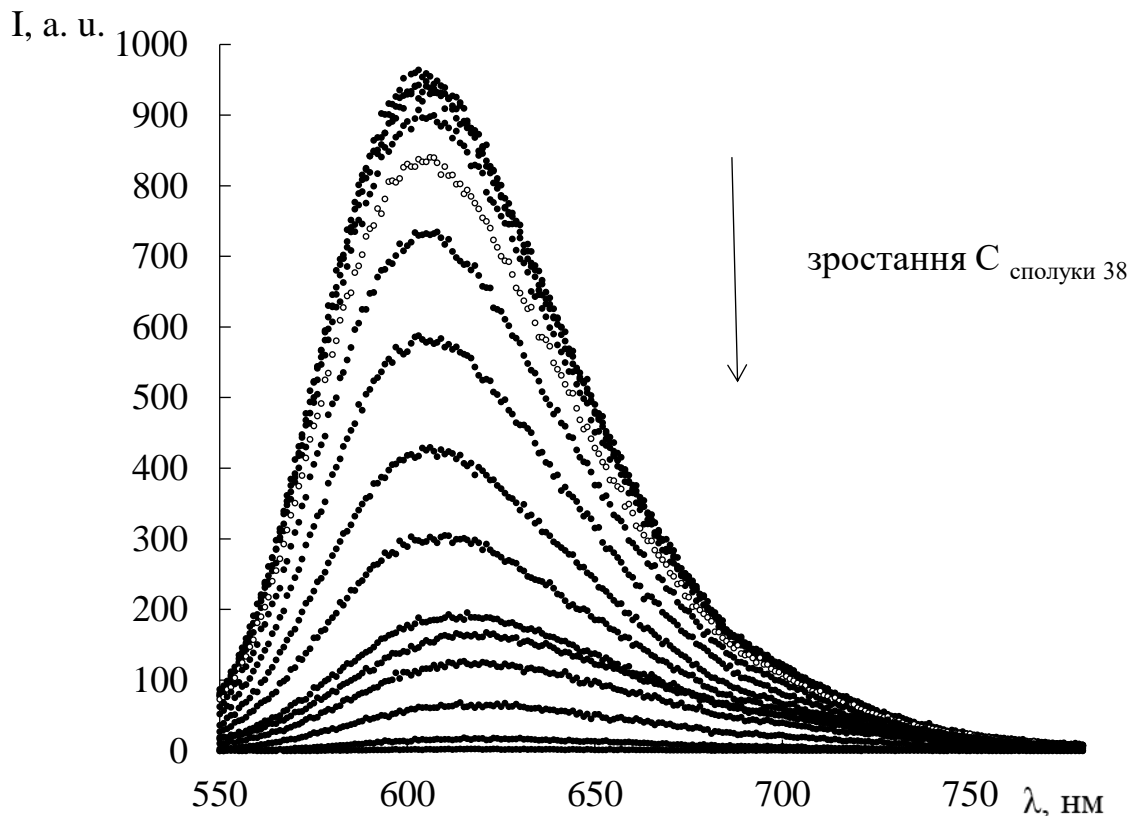


Рис.5. Зниження флуоресценції комплексу ДНК-етидій бромід при підвищенні концентрації сполуки 38

Інтенсивність флуоресценції  $I\%$  розчинів №№ 1 – 14 виражають у відсотках щодо інтенсивності флуоресценції розчину “А”. Будують залежність  $I\%$  від  $\lg C_L$ . Отримані значення апроксимують сигмоїдою. Точку, що відповідає  $\lg C_{50}$  визначають як точку перегину, а її довірчий інтервал – як

ширину коридору помилок при 50% витісненні етидію броміду з комплексу з ДНК.

Константу афінитету до ДНК досліджуваної сполуки розраховують за формулою [37]:

$$\lg K_a = \lg K_{Et} + (\lg C_{Et} - \lg C_{50}) \quad 1$$

де:

$K_a$  – константа асоціації досліджуваної речовини,

$C_{50}$  – концентрація речовини, що призводить до 50% зниження інтенсивності флуоресценції (витіснення етидію броміду з його комплексу із ДНК),

$\lg C_{Et}$  – використована в експерименті концентрація етидію броміду,

$\lg K_{Et}$  – константа асоціації із ДНК етидію броміду ( $K_{Et} = 1 \cdot 10^7 \text{ M}^{-1}$ ).

За наведеними розрахунками було отримано величину  $\lg K_a$  для сполуки 38, яка дорівнює 6.42, що типове для інтеркаляторів ДНК середньої сили.

Таким чином підтверджено гіпотезу про ДНК як додаткову клітинну мішень похідних триптантрину.

#### *2.5.5. Дослідження інгібуючої дії на пізню стадію реплікації ВІЛ-1*

Псевдотиповані глікопротеїнами вірусу везикулярного стоматиту частинки вірусу імунодефіциту людини (HIV-1(VSV)) були вироблені у культурі клітин нирки ембріона людини (НЕК 293).

Через 48 годин після трансфекції культурального середовища свіжих клітин НЕК 293 до нього була додана нормалізована кількість (HIV-1(VSV)), що містить зелений флуоресцентний білок (GFP). Відразу після зараження до клітин додавали різні концентрації речовин 20, 22, 30 та 38. Розчин ДМСО використовували для негативного контролю. Через 48 годин після зараження інфекційність ВІЛ-1 визначали кількісним визначенням GFP-позитивних клітин за допомогою проточної цитометрії та розраховували значення

концентрації інгібування ( $IC_{50}$ ) для кожного інгібітора. Відносна інфекційність була розрахована як % GFP-позитивних клітин [38]. Результати дослідження наведені у *табл. Таблиця 8*

**Таблиця 8**

Номер сполуки	% GFP-позитивних клітин
20	55,3
22	105,5
30	69,6
38	59,4

Як видно, обидва вивчені об'єкти нашого дослідження - сполуки 38 та 30 демонструють середню протівірусну активність, на рівні із сполукою порівняння – незаміщеним триптантрином.

Біологічні дослідження у п.2.5.5 буди проведені у Празькому хіміко-технологічному університеті професором Мікаелою Румловою.

## ВИСНОВКИ

1. Проведено синтез низки похідних триптантринів та їх оксимів, що мають атоми бромів та метоксі групи у різних положеннях. Реакцією заміщення бромів з 7-бромотриптантрину синтезовано 9 нітрогенвмісних заміщених триптантринів - потенційних біологічно-активних речовин.
2. Будову синтезованих сполук підтверджено за допомогою фізичних і фізико-хімічних методів аналізу (ЯМР  $^1\text{H}$ , ЯМР  $^{13}\text{C}$ , мас-спектрометрія).
3. Встановлено, що найбільшу активність серед досліджених оксимів триптантринів відносно ферменту JNK3 мала сполука 26 (2,8-дибромотриптантрин) , що робить її потенційним протизапальним агентом.
4. Відсутність кореляції між афінитетом до JNK та інтегральною активністю в умовах експерименту *in vitro* свідчить про наявність більше ніж однієї мішені у клітині.
5. На прикладі сполуки 38 (7-(4-метилпіперазино)триптантрин) показано, що похідні триптантринів здатні до інтеркаляції до ДНК, що робить їх потенційними противірусними агентами.

## JITEPATYPA

- 
1. Shankar G. M., Swetha M., Keerthana C. K., Rayginia T. P., Anto R. J. Cancer Chemoprevention: A Strategic Approach Using Phytochemicals. *Frontiers in Pharmacology*. 2022. Vol. 12. 809308.
  2. Zeng Q., Luo C., Cho J., Lai D., Shen X., Zhang X., Zhou W. Tryptanthrin exerts anti-breast cancer effects both in vitro and in vivo through modulating the inflammatory tumor microenvironment. *Acta Pharmaceutica*. 2020. Vol. 71. I. 2. P. 245–266.
  3. Gao J.-Y., Chang C.-S., Lien J.-C., Chen T.-W., Hu J.-L., Weng J.-R. Synthetic Tryptanthrin Derivatives Induce Cell Cycle Arrest and Apoptosis via Akt and MAPKs in Human Hepatocellular Carcinoma Cells. *Biomedicines*. 2021. Vol. 9. I. 11. 1527.
  4. Shankar M. G., Vijai V. A., Amrutha Ni. A., Smitha V. B., Sankar S., Archana P. R., Sadasivan C., and Anto R. J. Pre-clinical evidences for the efficacy of tryptanthrin as a potent suppressor of skin cancer. *Cell Proliferation*. 2019. Vol. 53. I. 1. e12710
  5. Li Y., Zhang S., Wang R., Cui M., Liu W., Yang Q., Kuang C. Synthesis of novel tryptanthrin derivatives as dual inhibitors of indoleamine 2,3-dioxygenase 1 and tryptophan 2,3-dioxygenase. *Bioorganic & Medicinal Chemistry Letters*. 2020. Vol. 30, I. 11. 127159.
  6. Y. Zou, Zhang G., Li C., Long H., Chen D., Li Z., Ouyang G., Zhang W., Zhang Y., Wang Z. Discovery of Tryptanthrin and Its Derivatives and Its Activities against NSCLC In Vitro via Both Apoptosis and Autophagy Pathways. *International Journal of Molecular Sciences*. 2023. Vol. 24. I. 2. 1450.
  7. Kumar K., Kaur R., Kumawat M. K. In-Silico Prediction of Novel Fused Quinazoline Based Topoisomerase Inhibitors as Anticancer Agents. *Medicinal Chemistry*. 2022. Vol. 18. P. 431 – 444.
  8. Catanzaro E., Betari N., Arencibia J. M., Montanari S., Sissi C., De Simone A., Vassura I., Santini A., Andrisano V., Tumiatti V., De Vivo M., Krysko D. V., Rocchi

---

M. B., Fimognari C., Milelli A. Targeting topoisomerase II with tryptanthrin derivatives: Discovery of 7-((2-(dimethylamino)ethyl)amino)indolo[2,1-b]quinazoline-6,12-dione as an antiproliferative agent and to treat cancer. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2020. Vol. 202. 112504.

9. Shabna A., Antony J., Vijayakurup V., Saikia M., Liju V. B., Retnakumari A. P., Amrutha N. A., Alex V. V., M. Swetha, Aiswarya S. U., Jannet S., Unni U. S., Sundaram S., Sherin D. R., Anto N. P., Bava S. V., Chittalakkottu S., Ran S., Anto R. J. Pharmacological attenuation of melanoma by tryptanthrin pertains to the suppression of MITF-M through MEK/ERK signaling axis. *Cellular and Molecular Life Sciences*. 2022. Vol. 79. I. 9. 478.

10. Wang Z.-F., Nong Q.-X., Yu H.-L., Qin Q.-P., Pan F.-H., Tan M.-Xi., Liangd H., Zhang S.-H. Complexes of Zn(II) with a mixed tryptanthrin derivative and curcumin chelating ligands as new promising anticancer agents. *Dalton Transactions*. 2022. Vol. 51, I. 13. P. 5024–5033.

11. Tsai Y.-C., Lee C.-L., Yen H.-R., Chang Y.-S., Lin Y.-P., Huang S.-H., Lin C.-W. Antiviral Action of Tryptanthrin Isolated from *Strobilanthes cusia* Leaf against Human Coronavirus NL63. *Biomolecules*. 2020. Vol. 10, №. 3. 366.

12. Cai C., Xu L., Fang J., Dai Z., Wu Q., Liu X., Wang Q., Fang J., Liu A.-L., Du G.-H. In Silico Prediction and Bioactivity Evaluation of Chemical Ingredients Against Influenza A Virus From *Isatis tinctoria* L. *Frontiers in Pharmacology*. 2021. Vol. 12. 755396.

13. Xu L., Jiang W., Jia H., Zheng L., Xing J., Liu A., Du G. Discovery of Multitarget-Directed Ligands Against Influenza A Virus From Compound Yizhihao Through a Predictive System for Compound-Protein Interactions. *Frontiers in Cellular and Infection Microbiology*. 2020. Vol. 10. 16.

14. Elkaeed E.B., Metwaly A.M., Alesawy M.S., Saleh A.M., Alsfouk A.A., Eissa I.H. Discovery of Potential SARS-CoV-2 Papain-like Protease Natural Inhibitors Employing a Multi-Phase In Silico Approach. *Life*. 2022. Vol. 12, no. 9. 1407.

15. Numao N., Kawaguchi S., Ding J., Karasawa T., Seya K., Matsumiya T., Kikuchi H., Sakuraba H., Fukuda S., Imaizumi T. Tryptanthrin attenuates TLR3-mediated

---

STAT1 activation in THP-1 cells. *Immunologic Research*. 2022. Vol. 70. P. 688-697.

16. Hagiya M., Takeuchi F., Sugano A., Yoneshige A., Inoue T., Wada A., Kajiyama H., Takaoka Y., Sasaki K., Ito A. Indigo plant leaf extract inhibits the binding of SARS-CoV2 spike protein to angiotensin converting enzyme 2. *Experimental and Therapeutic Medicine*. 2022. Vol. 23. I. 4. P. 274.

17. Yu R., Li P. Screening of potential spike glycoprotein/ACE2 dual antagonists against COVID-19 in silico molecular docking. *Journal of Virological Methods*. 2022. Vol. 301. 114424.

18. Narkhede R. R., Pise A. V., Chek R. S., Shinde S. D. Recognition of Natural Products as Potential Inhibitors of COVID-19 Main Protease (Mpro): In-Silico Evidences. *Natural Products and Bioprospecting*. 2020. Vol. 10, №. 5. P. 297–306.

19. Obafemi C. A., Adegbite O. B., Fadare O. A., Iwalewa E. O., Omisore N. O., Sanusi K., Yilmaz Y., Ümit Ceylan Tryptanthrin from microwave-assisted reduction of isatin using solid-state-supported sodium borohydride: DFT calculations, molecular docking and evaluation of its analgesic and anti-inflammatory activity. *Helicon*. 2021. Vol. 7, №. 1. e05756.

20. Kawaguchi S., Sakuraba H., Kikuchi H., Numao N., Asari T., Hiraga H., Ding J., Matsumiya T., Seya K., Fukuda S., Imaizumi T. Tryptanthrin suppresses double-stranded RNA-induced CXCL10 expression via inhibiting the phosphorylation of STAT1 in human umbilical vein endothelial cells. *Molecular Immunology*. 2021. Vol. 129. P. 32–38.

21. Lee C.-L., Wang C.-M., Kuo Y.-H., Yen H.-R., Song Y.-C., Chou Y.-L., Chen C.-J. IL-17A inhibitions of indole alkaloids from traditional Chinese medicine Qing Dai. *Journal of Ethnopharmacology*. 2020. Vol. 255. 112772.

22. Schepetkin I., Khlebnikov A., Potapov A., Kovrizhina A., Matveevskaya V., Belyanin M., Quinn M. Synthesis, biological evaluation, and molecular modeling of 11H-indeno[1,2-b]quinoxalin-11-one derivatives and tryptanthrin6-oxime as c-Jun N-terminal kinase inhibitors. *European Journal of Medicinal Chemistry*. 2019. Vol. 161. P. 179 – 191.

- 
23. Hesse-Macabata J., Morgner B., Elsner P., Hipler U.-C., Wiegand C. Tryptanthrin promotes keratinocyte and fibroblast responses in vitro after infection with *Trichophyton benhamiae* DSM6916. *Scientific Reports*. 2020. Vol. 10. I. 1. 1863.
24. Lin C.-J., Chang Y.-L., Yang Y.-L., Chen Y.-L. Natural alkaloid tryptanthrin exhibits novel anticryptococcal activity. *Medical Mycology*. 2020. Vol. 59. I. 6. P. 545–556.
25. Iwata T., Watanabe-Yanai A., Tamamura-Andoh Y., Arai N., Akiba M., Kusumoto M. Tryptanthrin Reduces *Campylobacter jejuni* Colonization in the Chicken Gut by a Bactericidal Mechanism. *Applied and Environmental Microbiology*. 2023. Vol. 89. I. 2. e01701-22.
26. Xiong Y., Wang J., Wang S., Li H., Zhou X. Tryptanthrin ameliorates imiquimod-induced psoriasis in mice by suppressing inflammation and oxidative stress via NF- $\kappa$ B/MAPK/Nrf2 pathways. *Journal of Natural Medicines*. 2022. Vol. 77. P. 188-201.
27. Sharma V. Prasanna P., Adi Seshu K., Sunil Kumar G., Renuka B., Laxman R., Narasimhulu C., Aravind Babu P., Puranik R., Subramanyam D., Venkateswarlu A., Rajagopal S., Kumar K. B. S., Rao C., Mamidi N. V. S. R., Ajaykumar R., Deevi D. S., Novel indolo[2,1-b]quinazoline analogues as cytostatic agents: synthesis, biological evaluation and structure–activity relationship Rajagopalan R. *Bioorg. Med. Chem. Lett*. 2002. Vol. 12. P. 2303 – 2307.
28. Bowman W. R., Elsegood M. R. J., Stein T., Weaver G. W. Radical reactions with 3H-quinazolin-4-ones: synthesis of deoxyvasicinone, mackinazolinone, luotonin A, rutaecarpine and tryptanthrin. *Org. Biomol. Chem*. 2007. Vol. 5. № 1. P. 103–113.
29. Liang J., Park S.-E., Jahng Y., Kwon Y. Synthesis of benzo-annulated tryptanthrins and their biological properties. *Bioorganic and Medicinal Chemistry*. 2012. Vol. 41. № 16. P. 4962 – 4967.

- 
30. Addada K. R., Regalla V. R., Anna V. R. Novel and Efficient One-Pot Tandem Synthesis of Tryptanthrin Derivatives for Biological Activity. *International Journal of Pharma Research and Health Sciences*. 2018. Vol. 6. P. 2865-2868.
31. Amara R., Awad H., Chaker D. Conversion of isatins to tryptanthrins. *European Journal of Organic Chemistry*. 2019. Vol. 2019. P. 5302-5312.
32. Brandão, P., Pinheiro D., Seixas de Melo J. S., Pineiro M. I<sub>2</sub>/NaH/DMF as oxidant trio for the synthesis of tryptanthrin from indigo or isatin. *Dyes and Pigments*. 2020. Vol.173. 107935.
33. Jia F-Ch., Zhou Zh-W., Xu Ch., Wu Y.-D., Wu A.-X. Divergent Synthesis of Quinazolin-4(3H)-ones and Tryptanthrins Enabled by a tert-Butyl Hydroperoxide/K<sub>3</sub>PO<sub>4</sub>-Promoted Oxidative Cyclization of Isatins at Room Temperature. *Organic Letters*. 2016. Vol. 18. № 12. P. 2942 – 2945.
- 34 Kumar A., Tripathi V. D., Kumar P. β-Cyclodextrin catalysed synthesis of tryptanthrin in water. *Green Chem*. 2011. Vol. 13. I. 1. P. 51–54.
35. Ma Y.-C. Munson B. Thermal effects on the mass spectra of benzophenone oximes obtained by gas chromatography/electron ionization mass spectrometry. *Organic Mass Spectrometry*. 1991. Vol. 26. P. 821-825.
36. Schepetkin I.A., Karpenko O.S., Kovrizhina A.R., Kirpotina L.N., Khlebnikov A.I., Chekal S.I., Radudik A.V., Shybinska M.O., Quinn M.T. Novel Tryptanthrin Derivatives with Selectivity as c-Jun N-Terminal Kinase (JNK) 3 Inhibitors. *Molecules*. 2023. Vol. 28. I. 12. P. 4806.
37. Antonini I., Polucci P., Kelland L.R., Menta E., Pescalli N., Martelli S. 2,3-Dihydro-1H,7H-pyrimido[5,6,1-de]acridine-1,3,7-trione derivatives, a class of cytotoxic agents active on multidrug-resistant cell lines: synthesis, biological evaluation, and structure-activity relationships. *J. Med. Chem*. 1999, Vol. 42. № 14. P. 2535–2541.
38. Dostálková A., Škach K., Kaufman F., Křížová I., Hadravová R., Flegel M., Ruml T., Hrabal R., Rumlová M. PF74 and Its Novel Derivatives Stabilize Hexameric Lattice of HIV-1 Mature-Like Particles. *Molecules*. 2020. Vol. 25. I. 8. 1895.