

Л. Лейте, Д. Янсоне, М. Флейшер, Х. Кажока, Ю. Попелис,
Н. Веретенникова, И. Шестакова, И. Домрачева, Э. Лукевиц

СИНТЕЗ И ЦИТОТОКСИЧЕСКАЯ АКТИВНОСТЬ 4-ЗАМЕЩЕННЫХ 6,6-ДИМЕТИЛ-3-ЦИАНО-5,6-ДИГИДРО-2-ПИРАНОНОВ

Конденсацией замещенных бензальдегидов с 4,6,6-триметил-3-циано-5,6-дигидро-2-пираноном в присутствии каталитических количеств NaOH синтезированы соответствующие 4-(арилвинил)лактоны и соединения типа аддуктов реакции Михаэля. Полуэмпирическим методом AM1 показано, что указанные продукты могут образовываться через одно и то же промежуточное соединение. Некоторые из синтезированных фенолвинил-5,6-дигидро-2-пиранонов обладают цитотоксическим эффектом, что соответствует прогнозу экспертной системы OREX.

Ключевые слова: бензальдегид, замещенные δ -лактоны, механизм кротоновой конденсации, полуэмпирический метод AM1, цитотоксическая активность, эксперт-система OREX.

Нами было показано, что реакция метилзамещенных γ - и δ -лактонов с пиридинальдегидами осуществляется по нетрадиционному механизму, согласно которому наряду с продуктами кротоновой конденсации образуются продукты реакции одной молекулы альдегида с двумя молекулами пиранона [1]. В то же время в работах [2, 3], посвященных конденсации бензальдегидов с указанными лактонами, никаких отклонений от классического механизма реакции кротоновой конденсации не установлено.

Целью настоящей работы являются более детальное исследование конденсации 4,6,6-триметил-3-циано-5,6-дигидро-2-пиранона (**1**) с замещенными бензальдегидами **2–10** и выяснение влияния особенностей электронного строения альдегида на соотношение двух путей реакции конденсации с СН-кислотой.

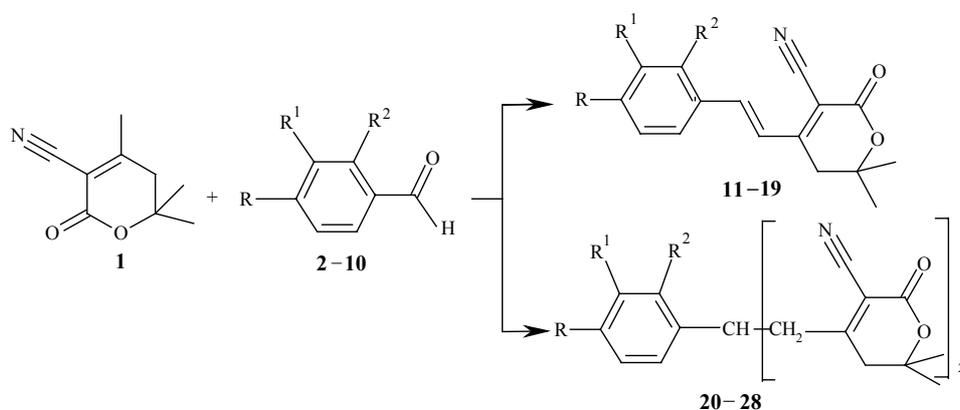
Ранее нами было показано, что 6,6-диметил-4-[2-(4-нитрофенил)-винил]-3-циано-5,6-дигидро-2-пиранон, также как его аналоги с пиридилсодержащими заместителями, обладает выраженной кардиоваскулярной активностью [1], поэтому второй целью работы было проведение анализа потенциальной биологической активности синтезированных соединений при помощи экспертной системы OREX (Optimized Recognizing Expert System), разработанной в Латвийском институте органического синтеза), а также экспериментальная проверка установленного соотношения структура–активность.

Реакция альдегидов **2–10** с пираноном **1** проводилась в этаноле в присутствии каталитических количеств NaOH при молярных отношениях пиранон–альдегид–NaOH = (0.7–2):1:(0.06–0.13). Начальная концентрация пиранона 1.87, альдегидов 0.93 моль/л. Согласно данным табл. 1, в результате реакции всех альдегидов с пираноном **1** образуются два типа

соединений (продукты кротоновой конденсации **11–19** и соединения типа аддукта реакции Михаэля **20–28**), время появления которых и выходы зависят от характера заместителя альдегида и температуры.

Для сравнения реакционной способности бензальдегидов с различными заместителями выход продуктов реакции определялся методом ВЭЖХ без выделения их из реакционной смеси. Контроль динамики процесса осуществлялся методом ТСХ.

Как видно из табл. 1, при реакции с пираноном незамещенного альдегида **2** преимущественно образуется продукт типа аддукта реакции Михаэля **20** независимо от температуры реакции и молярного соотношения реагентов. Выход этого соединения увеличивается с ростом количества катализатора и временем реакции. Появление продукта кротоновой конденсации **11** хроматографически наблюдалось только через 4 ч.



- 2, 11, 20** R = R¹ = R² = H; **3, 12, 21** R = NO₂, R¹ = R² = H; **4, 13, 22** R = Cl, R¹ = R² = H;
5, 14, 23 R = Cl, R¹ = H, R² = Cl; **6, 15, 24** R = NMe₂, R¹ = R² = H;
7, 16, 25 R = Me, R¹ = R² = H; **8, 17, 26** R = OH, R¹ = R² = H;
9, 18, 27 R = OMe, R¹ = R² = H; **10, 19, 28** R = OH, R¹ = OMe, R² = H

Продукты реакции пиранона **1** и альдегида **8** выделить не удалось, но, судя по данным хроматографии и спектра ЯМР ¹H, образуются оба соединения – **17** и **26**. При соотношении пиранон–альдегид **3**, 2 : 1, образуется, главным образом, соединение **21**, но, благодаря влиянию электроноакцепторного заместителя NO₂, с более низким выходом, чем в случае незамещенного альдегида. И только, если молярное отношение альдегид–пиранон, 1.5 : 1, продукт типа аддукта реакции Михаэля в продуктах реакции больше обнаружить не удастся.

В случае электронодонорного заместителя NMe₂ (альдегид **6**), как и следовало ожидать, скорость реакции резко уменьшается, и более 76% пиранона остаются непрореагировавшими даже после 4 ч выдержки смеси. Выход продукта **24** в этом случае составляет только 1.7%.

Строение полученных лактонов доказано на основании спектров ЯМР ¹H (табл. 2 и 3).

Согласно параметрам спектров ЯМР ¹H винильный фрагмент соединений **11–16**, **18, 19** имеет *транс*-конфигурацию (³J = 15.9–16.2 Гц).

Реакция пиранона 1 с бензальдегидами 2–10 при температуре 78 °С

| Альдегид | Молярное отношение альдегид–пиранон–NaOH | Время, ч | Выход продуктов реакции, % | |
|----------|--|----------|----------------------------|------------------------------|
| | | | кетоновой конденсации | типа аддукта реакции Михаэля |
| 2 | 1 : 1 : 0.06 | 2.5* | – | 63.5 |
| 2 | 1 : 2 : 0.06 | 1 | – | 41.5 |
| 2 | 1 : 2 : 0.06 | 4 | 3.1** | 57.6*** |
| 2 | 1 : 2 : 0.13 | 4 | – | 81.4 |
| 3 | 1 : 2 : 0.06 | 4 | 22.6* ⁴ | 75.3* ⁵ |
| 3 | 1 : 0.7 : 0.06 | 4 | 60.0 | – |
| 4 | 1 : 2 : 0.06 | 4 | 15.2 | 52.7 |
| 5 | 1 : 2 : 0.06 | 4 | 33.3 | 52.0 |
| 6 | 1 : 2 : 0.06 | 4 | 11.7* ⁶ | 1.7* ⁷ |
| 7 | 1 : 2 : 0.06 | 0.1 | 10.9 | 22.7 |
| 8 | 1 : 2 : 0.06 | 0.5 | 24.6 | 21.7 |
| 9 | 1 : 2 : 0.06 | 1 | 14.8 | 39.8 |
| 10 | 1 : 2 : 0.06 | 0.5 | 37.9 | 13.2 |

* Температура реакции 20 °С.

** Образуется через 4 ч.

*** Образуется через 15 мин после смешения реагентов.

*⁴ Образуется в момент смешения реагентов.

*⁵ Образуется через 5 мин.

*⁶ Образуется через 1 ч.

*⁷ Образуется через 3 ч.

Сопоставление изменений химических сдвигов обоих винильных протонов при смене заместителя в фенильном кольце дает основание отнести слабополюсный дублет к поглощению протона у атома С, связанного с фенильной группой (диапазон изменения химических сдвигов $\Delta\delta = 0.42$ м. д.), а сильнополюсный дублет – к поглощению протона у атома С, связанного с остатком пиранона ($\Delta\delta = 0.26$ м. д.).

Обращает внимание то, что в спектрах лактонов **11–16**, **18**, **19** протоны CH_2 и протоны обоих метильных групп в кольце пиранона магнитно эквивалентны, в то время как в лактонах **20–28** химические сдвиги тех же протонов различаются (0.04–0.16 и 0.02–0.17 м. д. соответственно). Модели Дрейдинга показывают, что пираноновое кольцо имеет форму искаженного *полукресла* и при смене заместителя в положении 2 пиранона изменяется скорость конформационных переходов. Магнитная неэквивалентность наблюдается также для протонов CH_2 фрагментов $-\text{CH}(\text{CH}_2)_2-$ соединений **20–28** ($^2J = 12.4\text{--}13.2$ Гц), что может быть обусловлено значительным объемом замещенных пиранонов, препятствующим свободному вращению по связи CH_2 –пиранон.

В соответствии с нашими представлениями о механизме кетоновой конденсации пиридинальдегидов с фураноном оба продукта реакции

Спектры ЯМР ¹H лактонов 11–16, 18, 19

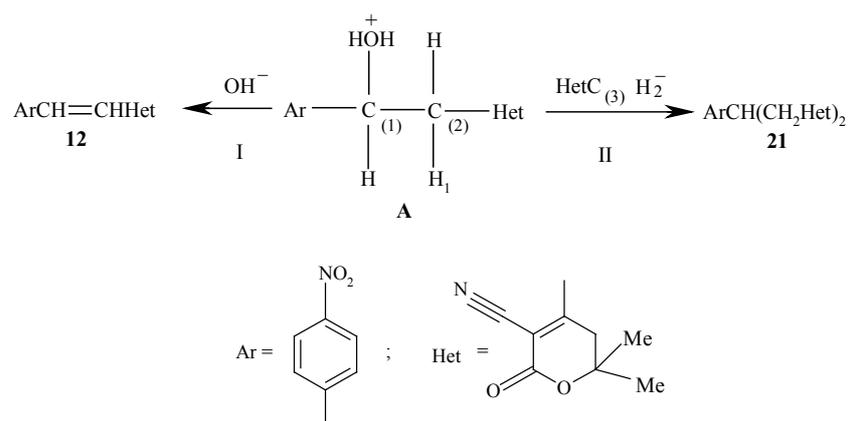
| Соединение | Брутто-формула | Найдено, % Вычислено, % | | | Т. пл., °C | ЯМР ¹ H (CDCl ₃), δ, м. д. (J, Гц) |
|------------|---|----------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--|
| | | C | H | N | | |
| 11 | C ₁₆ H ₁₅ NO ₂ | <u>75.87</u> 75.87 | <u>5.97</u> 5.97 | <u>5.54</u> 5.53 | 144–146 | 1.52 (6H, с, CH ₃ пиранона); 2.87 (2H, с, CH ₂ пиранона); 7.29 и 7.45 (2H, д и д, J = 16.2, CH=CH); 7.3–7.7 (5H, м, C ₆ H ₅) |
| 12 | C ₁₆ H ₁₄ N ₂ O ₄ | <u>64.40</u> 64.42 | <u>4.67</u> 4.73 | <u>9.35</u> 9.39 | 224–226 | 1.55 (6H, с, CH ₃ пиранона); 2.88 (2H, с, CH ₂ пиранона); 7.31 и 7.54 (2H, д и д, J = 16.2, CH=CH); 7.76 (2H, м, J = 9.0, C ₆ H ₄ H ₂ , H ₆); 8.3 (2H, м, J = 9.0, C ₆ H ₄ H ₃ , H ₅) |
| 13 | C ₁₆ H ₁₄ ClNO ₂ | <u>66.74</u> 66.79 | <u>4.84</u> 4.90 | <u>4.88</u> 4.87 | 180–182 | 1.53 (6H, с, CH ₃ пиранона); 2.86 (2H, с, CH ₂ пиранона); 7.25 и 7.46 (2H, д и д, J = 16.1, CH=CH); 7.42 (2H, м, J = 8.9, C ₆ H ₃ H ₂ , H ₆); 7.55 (2H, м, J = 8.9, C ₆ H ₄ H ₃ , H ₅) |
| 14 | C ₁₆ H ₁₃ Cl ₂ NO ₂ | <u>59.69</u> 59.65 | <u>4.06</u> 4.07 | <u>4.29</u> 4.35 | 212–214 | 1.55 (6H, с, CH ₃ пиранона); 2.88 (2H, с, CH ₂ пиранона); 7.34 (1H, дд, J = 8.6 и 2.0, C ₆ H ₃ H ₅) 7.38 и 7.63 (2H, д и д, J = 16.2, CH=CH); 7.47 (1H, д, J = 2.0, C ₆ H ₃ H ₃); 7.74 (1H, д, J = 8.6, C ₆ H ₃ H ₆) |
| 15 | C ₁₈ H ₂₀ N ₂ O ₂ | <u>72.88</u> 72.95 | <u>6.75</u> 6.80 | <u>9.40</u> 9.45 | 192–194 | 1.50 (6H, с, CH ₃ пиранона); 2.81 (2H, с, CH ₂ пиранона); 3.08 (6H, с, N(CH ₃) ₂); 6.68 (2H, м, J = 9.0, C ₆ H ₄ H ₂ , H ₆); 7.22 (2H, с, CH=CH); 7.51 (2H, м, J = 9.0, C ₆ H ₄ H ₃ , H ₅) |
| 16 | C ₁₇ H ₁₇ NO ₂ | <u>76.36</u> 76.38 | <u>6.40</u> 6.41 | <u>5.26</u> 5.24 | 143–145 | 1.52 (6H, с, CH ₃ пиранона); 2.40 (3H, с, CH ₃ C ₆ H ₄); 2.85 (2H, с, CH ₂ пиранона); 7.24 (2H, м, J = 8.2, C ₆ H ₄ H ₃ , H ₅), 7.26 и 7.39 (2H, д и д, J = 15.6, CH=CH); 7.51 (2H, м, J = 8.2, C ₆ H ₄ H ₂ , H ₆) |
| 18 | C ₁₇ H ₁₇ NO ₃ | <u>72.06</u> 72.07 | <u>6.06</u> 6.05 | <u>4.93</u> 4.94 | 139–141 | 1.51 (6H, с, CH ₃ пиранона); 2.84 (2H, с, CH ₂ пиранона); 3.87 (3H, с, OCH ₃); 6.95 (2H, м, J = 8.9, C ₆ H ₄ H ₂ , H ₆); 7.25 и 7.31 (2H, д и д, J = 15.9, CH=CH); 7.58 (2H, м, J = 8.9, C ₆ H ₄ H ₃ , H ₅) |
| 19 | C ₁₇ H ₁₇ NO ₄ | <u>68.19</u> 68.22 | <u>5.72</u> 5.72 | <u>4.66</u> 4.68 | 233–236 (разл.) | 1.42 (6H, с, CH ₃ пиранона); 3.09 (2H, с, CH ₂ пиранона); 3.84 (3H, с, OCH ₃); 6.89 (1H, д, J = 7.8, C ₆ H ₃ H ₅); 7.12 и 7.64 (2H, д и д, J = 15.9, CH=CH); 7.2–7.4 (2H, м, C ₆ H ₃ H ₂ , H ₆); 10.0 (1H, с, OH) |

Характеристики лактонов 20–28

| Со- еди- не- ние | Брутто- формула | Найдено, % Вычислено, % | | | Т. пл., °С | ЯМР ¹ Н (в ДМСО-d ₆), δ, м. д. (J, Гц) |
|---------------------------|---|----------------------------|---------------------|---------------------|--------------------|--|
| | | С | Н | Н | | |
| 20 | C ₂₅ H ₂₆ N ₂ O ₄ | <u>71.72</u> 71.75 | <u>6.26</u> 6.26 | <u>6.70</u> 6.69 | 188–192 | 1.23 и 1.25 (12Н, с и с, СН ₃ пиранона); 2.33 и 2.49 (4Н, д и д, J = 18.9, СН ₂ пиранона); 3.00 (2Н, д, д, J = 12.4 и 10.4 СН(СН ₂) ₂); 3.09 (2Н, д, д, J = 12.4 и 5.6 СН(СН ₂) ₂); 3.49 (1Н, м, СН); 7.2–7.5 (5Н, м, С ₆ Н ₅) |
| 21 | C ₂₅ H ₂₅ N ₃ O ₆ | <u>64.65</u> 64.79 | <u>5.42</u> 5.44 | <u>9.03</u> 9.07 | 204–207 (разл.) | 1.22 и 1.35 (12Н, с и с, СН ₃ пиранона); 2.75 и 2.80 (4Н, д и д, СН ₂ пиранона); 3.02 и 3.08 (4Н, м и м, СН(СН ₂) ₂); 3.71 (1Н, м, СН); 7.68 (2Н, м, J = 9.6, С ₆ Н ₄ Н ₂ и Н ₆); 8.18 (2Н, м, J = 9.6, С ₆ Н ₄ Н ₃ , Н ₅) |
| 22 | C ₂₅ H ₂₅ ClN ₂ O ₄ | <u>66.27</u> 66.30 | <u>5.57</u> 5.56 | <u>6.14</u> 6.18 | 183–185 (разл.) | 1.18 и 1.32 (12Н, с и с, СН ₃ пиранона); 2.75 и 2.81 (4Н, д и д, СН ₂ пиранона); 3.00 и 3.04 (4Н, м и м, СН(СН ₂) ₂); 3.51 (1Н, м, СН); 7.40 (4Н, с, С ₆ Н ₄) |
| 23 | C ₂₅ H ₂₄ Cl ₂ N ₂ O ₄ | <u>61.63</u> 61.61 | <u>4.87</u> 4.96 | <u>5.69</u> 5.75 | 212–214 | 1.23 и 1.30 (12Н, с и с, СН ₃ пиранона); 2.73 и 2.77 (4Н, д и д, СН ₂ пиранона); 3.05 и 3.11 (4Н, м и м, СН(СН ₂) ₂); 3.97 (1Н, м, СН); 7.4–7.8 (3Н, м, С ₆ Н ₃) |
| 25 | C ₂₆ H ₂₈ N ₂ O ₄ | <u>72.16</u> 72.20 | <u>6.52</u> 6.53 | <u>6.47</u> 6.48 | 185–187 | 1.16 и 1.33 (12Н, с и с, СН ₃ пиранона); 2.25 (3Н, с, СН ₃ С ₆ Н ₄); 2.73 и 2.82 (4Н, д и д, J = 19.1, СН ₂ пиранона); 2.95 и 3.04 (4Н, м и м, СН(СН ₂) ₂); 3.50 (1Н, м, С ₆ Н ₄ (1Н, м, СН)); 7.12 (2Н, м, J = 7.8, С ₆ Н ₄ Н ₂ , Н ₆); 7.22 (2Н, м, J = 7.8, С ₆ Н ₄ Н ₃ , Н ₅) |
| 26 | C ₂₅ H ₂₆ N ₂ O ₅ · 0.5 H ₂ O | <u>67.76</u> 67.71 | <u>6.18</u> 6.14 | <u>6.26</u> 6.32 | 157–160 (разл.) | 1.16 и 1.31 (12Н, с и с, СН ₃ пиранона); 2.72 и 2.79 (4Н, д и д, СН ₂ пиранона); 2.8–3.1 (4Н, м, СН(СН ₂) ₂); 3.35 (1Н, м, СН); 6.68 (2Н, м, J = 8.5, С ₆ Н ₄ Н ₂ , Н ₆); 7.14 (2Н, м, J = 8.5, С ₆ Н ₄ Н ₃ , Н ₅); 9.37 (1Н, с, ОН) |
| 27 | C ₂₆ H ₂₈ N ₂ O ₅ | <u>69.54</u> 69.63 | <u>6.24</u> 6.29 | <u>6.30</u> 6.25 | 193–196 (разл.) | 1.16 и 1.32 (12Н, с и с, СН ₃ пиранона); 2.72 и 2.83 (2Н, д и д, J = 19.2, СН ₂ пиранона); 2.95 и 3.03 (4Н, м и м, СН(СН ₂) ₂); 3.50 (1Н, м, СН); 3.71 (3Н, с, ОСН ₃); 6.87 (2Н, м, J = 8.6, С ₆ Н ₄ Н ₂ , Н ₆); 7.26 (2Н, м, J = 8.6, С ₆ Н ₄ Н ₃ , Н ₅) |
| 28 | C ₂₆ H ₂₈ N ₂ O ₆ 0.5 C ₂ H ₅ OH 0.5 H ₂ O | <u>65.55</u> 65.31 | <u>6.31</u> 6.50 | <u>5.63</u> 5.64 | 158–160 (разл.) | 1.23 и 1.33 (12Н, с и с, СН ₃ пиранона); 2.70 и 2.86 (4Н, д и д, J = 19.1, СН ₂ пиранона); 3.10 (2Н, д, д, J = 13.2 и 5.6, СН(СН ₂) ₂); 3.23 (2Н, д, д, J = 13.2 и 10.0, СН(СН ₂) ₂); 3.57 (1Н, м, СН); 3.90 (3Н, с, ОСН ₃); 6.72 (1Н, д, J = 8.0, С ₆ Н ₃ Н ₅); 6.78 (1Н, д, д, J = 8.0 и 1.8, С ₆ Н ₃ Н ₆); 7.10 (1Н, д, J = 1.8, С ₆ Н ₃ Н ₂); 7.71 (1Н, с, ОН) |

бензальдегидов с пираноном **1** могут образовываться через один и тот же промежуточный продукт альдольной конденсации типа **A**, причем вероятным источником протонов являются гидратированные катионы натрия [3].

В настоящей работе квантово-химическим полуэмпирическим методом AM1 [4] изучена модельная конденсация пиранона **1** с альдегидом **3**. Визуализация и анимация полученных результатов осуществлялись с помощью JMol программы [5], для создания дизайна реакционной системы был использован пакет программ ChemCraft 1.3 [6]. Предполагалось, что по аналогии с реакцией пиридинальдегидов взаимодействие пиранона и альдегида **3** в зависимости от природы атакующего нуклеофила будет идти по двум направлениям:



Так, реакция интермедиата **A** с ионом OH^- может приводить к продукту кротоновой конденсации **12**. В стартовом положении ион OH^- находится на продолжении связи $\text{C}_{(2)}-\text{H}_{(1)}$, на расстоянии 3.10 Å от атома $\text{H}_{(1)}$ (рис. 1*a*).

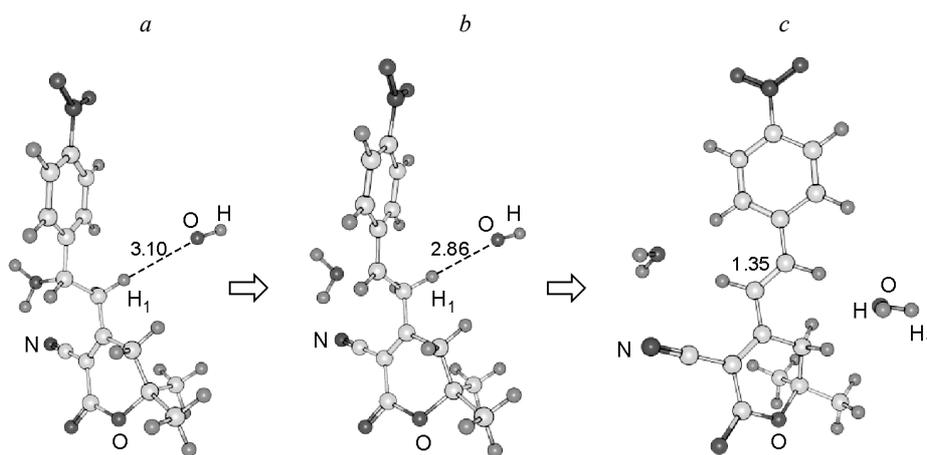


Рис. 1. Реакция промежуточного соединения **A** с ионом OH^- : *a* – стартовое положение; *b* – отщепление молекулы H_2O ; *c* – продукты реакции

При уменьшении этого расстояния до 2.86 Å от атома C₍₁₎ уходит молекула воды (рис. 1*b*). В дальнейшем под воздействием иона OH⁻ атом H₍₁₎ отрывается от атома C₍₂₎, что приводит к образованию еще одной молекулы воды и продукта **12** (рис. 1*c*). Таким образом, данное направление реакции осуществляется по *E2* механизму. Длина двойной связи соединения **12** 1.35 Å соответствует данным работы [7]. Расчеты показывают, что реакция идет самопроизвольно без преодоления энергетического барьера. Энтальпия этой реакции -1011.7 кДж/моль.

На рис. 2*a* показано выбранное стартовое положение при расчете реакционной системы, включающей промежуточное соединение **A** и ион HetC₍₃₎H₂⁻. Расстояния C₍₃₎-C₍₁₎ и C₍₃₎-H₍₁₎ равны соответственно 5.14 и 3.30 Å. Ион HetC₍₃₎H₂⁻, у которого атом C₍₃₎ заряжен отрицательно (-0.386), атакует положительно заряженный атом C₍₁₎ (0.146) промежуточного соединения **A**. Когда расстояние C₍₃₎-C₍₁₎ уменьшается до 4.89 Å, от атома C₍₁₎ отщепляется молекула воды. В результате дальнейшего уменьшения расстояния между атомами C₍₃₎ и C₍₁₎ до 1.523 Å образуется соединение **21** (рис. 2*b*). В этот момент расстояние между молекулой воды и атомом C₍₁₎ составляет 4.09 Å. При визуализации процесса можно видеть как в ходе реакции постепенно происходит вальденовское обращение конфигурации атома C₍₁₎. Расчеты показывают, что реакция иона HetC₍₃₎H₂⁻ с интермедиатом **A** идет самопроизвольно без преодоления энергетического барьера. Теплота этой реакции составляет -697.1 кДж/моль.

Ранее расчетным путем было показано, что при конденсации 4,5,5-триметил-3-циано-2(5H)-фуранона с 3-пиридинкарбальдегидом реакция депротонированного по метильной группе фуранона с промежуточным соединением происходит региоселективно [3]. Так, если атака указанного аниона была направлена на атом C₍₁₎ промежуточного соединения

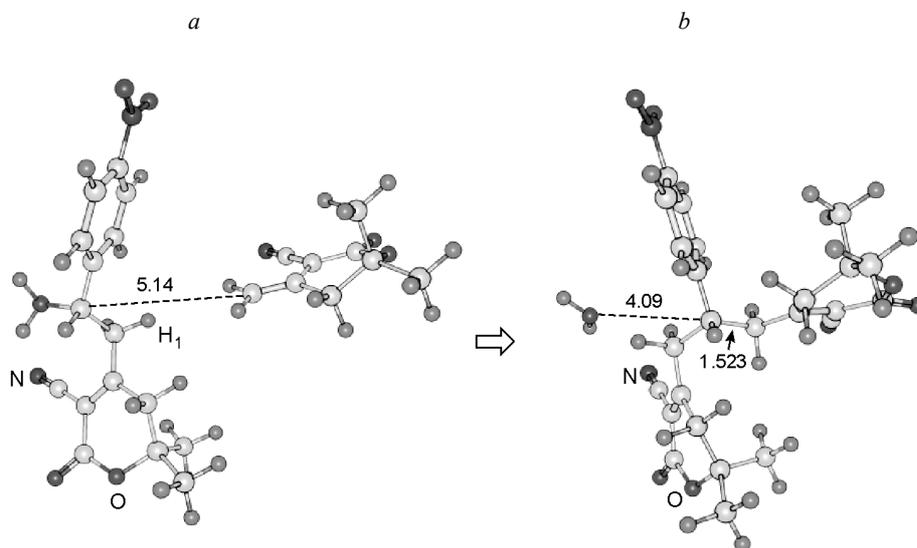


Рис. 2. Реакция промежуточного продукта **A** и иона HetCH₂⁻: *a* – исходное состояние; *b* – продукты реакции (соединение **21** и молекула воды)

(имеющего строение, аналогичное соединению **A** в настоящей работе), то происходило бимолекулярное нуклеофильное замещение (S_N2), в результате которого образовывался продукт типа аддукта реакции Михаэля. В то же время в результате атаки на атом $H_{(1)}$ образуются этенилпроизводное фуранона и исходный фуранон, т.е. происходит реакция бимолекулярного элиминирования $E2$.

Как следует из результатов квантовохимического анализа, в случае реакции пиранона **1** с альдегидом **3** при взаимодействии промежуточного соединения **A** с депротонированным пираноном, независимо от направления атаки аниона, образуется только продукт типа аддукта реакции Михаэля. Это, возможно, объясняет тот факт, что в близких условиях выход продукта **21** выше выхода соединения этого же типа, полученного реакцией 4,5,5-триметил-3-циано-2(5H)-фуранона с 3-пиридинкарбальдегидом (соответственно 81.4 и 59.5%).

Таким образом, результаты настоящей работы свидетельствуют о достаточно общем характере особенностей протекания реакции δ - и γ -метиллактонов с арил- и гетарилальдегидами, заключающихся в образовании не только продукта кротоновой конденсации, но и продукта типа аддукта реакции Михаэля.

Для прогнозирования биологической активности синтезированных соединений была использована экспертная система OREX [8, 9]. OREX – система программ для создания и анализа базы данных и базы знаний, а также для предсказания биологической активности. Алгоритмы логико-структурного подхода основаны на отборе и последующем использовании надежных признаков биологической активности, т. е. структурных фрагментов, определяющих тип биологической активности. Описание химической структуры основано на дескрипторных центрах и графах, представляющих топологию молекулы. Основываясь на дескрипторных центрах, программа кодирует структуру соединения, выделяя дескрипторы, которые в конечном счете являются абстрактным представлением структуры. Из набора дескрипторов отбираются признаки активности согласно рабочим правилам системы типа:



если соединение обладает признаком f , тогда с вероятностью P оно будет проявлять активность A .

Признаки отбирают согласно их статистической оценке, определенной на базе данных, используемой в качестве статистической выборки. При скрининге синтезированных нами соединений в программе OREX показано, что фенилвинилпроизводным γ -лактона может быть присуща противораковая активность. С определенной степенью вероятности можно сказать, что механизм их действия осуществляется путем ингибирования синтеза РНК, а также фактора некроза опухоли в соответствующих системах (рис. 3).

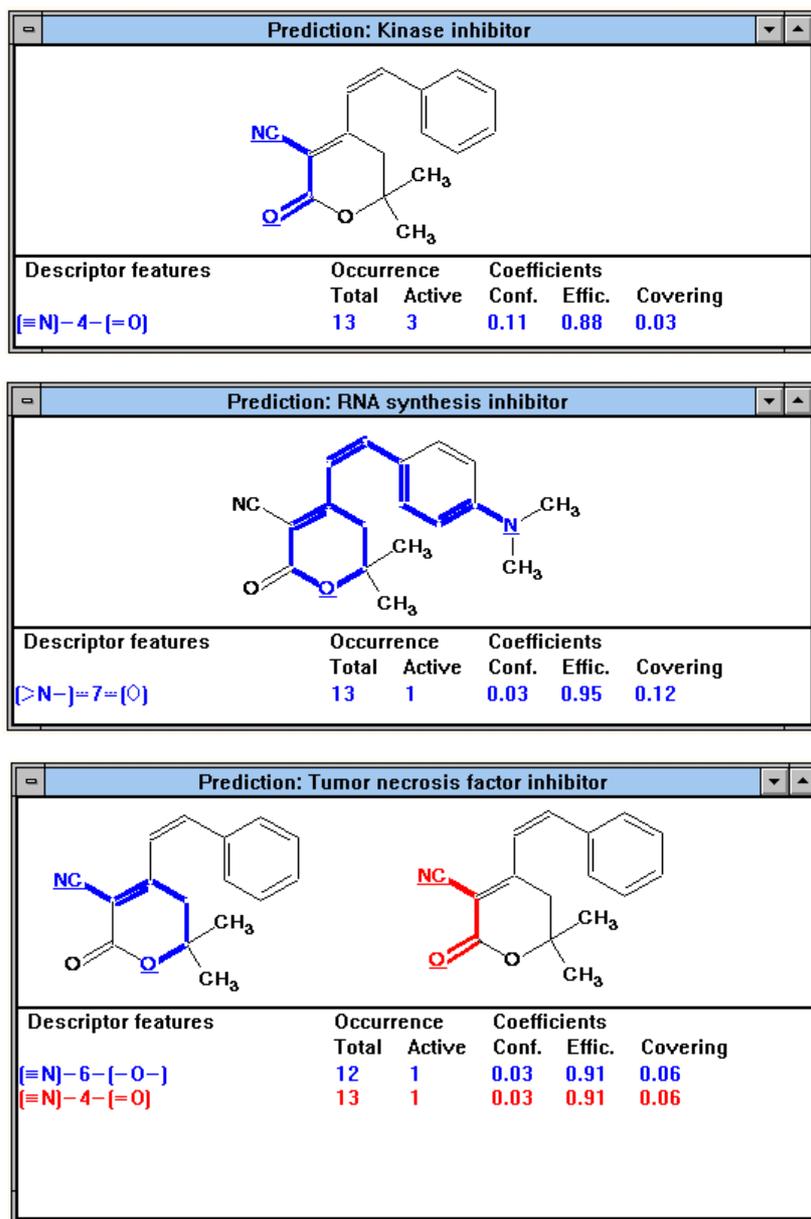


Рис. 3. Предсказание активности в OREX

Total – общее количество соединений, содержащих данный дескриптор, в базе данных; **Active** – количество активных соединений, содержащих данный дескриптор, в базе данных; **Conf.** – коэффициент доверия, показывающий нижний уровень вероятности, с которой соединение, обладающее данным признаком активности, действительно проявит эту активность; **Effic** – коэффициент эффективности, показывающий, во сколько раз соединение, обладающее этим признаком, имеет большую вероятность проявить данную активность, чем любое взятое наугад соединение; **Covering** – коэффициент покрытия признака, показывающий, какая часть активных соединений, обладает данным признаком.

На основании результатов прогнозирования были проверены цитотоксическая активность синтезированных соединений на монослойной линии опухолевых клеток MG-22A (мышьяная гепатома) и их способность стимулировать биосинтез радикалов оксида азота (NO[•]), одной из возможных составляющих цитотоксического эффекта (табл. 4). Наибольшей цитотоксической активностью обладают нитрофенилвинил- и хлорфенилпроизводные пиранона (соединения **12** и **13**), которые в низкой концентрации (5 и 6 мкг/мл соответственно) обеспечивают гибель клеток линии MG-22A. Высокий уровень генерирования NO[•] в клетках характерен для пиранона **13** (800%, окрашивание CV), чем может объясняться и его высокая кардиоваскулярная активность [1].

Т а б л и ц а 4

**Биологический эффект фениллактонов *in vitro*
на монослойной культуре MG-22A**

| Соединение | Цитотоксичность, мкг/мл* | | Генерация NO [•] (100% CV) |
|------------|--------------------------|------------------------|--|
| | TD ₅₀ (CV) | TD ₅₀ (МТТ) | |
| 11 | 26 | 48 | 67 |
| 12 | 5 | 33 | 21 |
| 13 | 6 | 17 | 800 |
| 14 | 58 | 75 | 17 |
| 15 | ** | ** | 5 |
| 16 | 28 | 42 | 50 |
| 18 | 34 | 32 | 50 |
| 19 | ** | ** | 6 |
| 20 | ** | ** | 9 |
| 22 | 52 | 58 | 300 |
| 23 | ** | ** | 15 |
| 25 | 55 | 74 | 53 |
| 26 | ** | ** | 11 |
| 27 | ** | ** | 9 |
| 28 | ** | ** | 7 |

* TD₅₀ – концентрация, обеспечивающая гибель 50% клеток, мкг/мл; CV – окрашивание кристаллическим фиолетовым; МТТ – окрашивание бромидом 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенилтетразолия [10, 11]; оксид азота определен методом Грейса в культуральной среде над клетками в пересчете на 100% живых клеток при окрашивании CV [10].

** Цитотоксический эффект отсутствует.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Выход продуктов реакции определяли при помощи ВЭЖХ на колонке Nova-Pak Silica (3.9×150 мм). Скорость подачи элюента (этилацетат–гексан, 1 : 1) 1.5 мл/мин, детектор УФ 254 нм. Спектры ЯМР ¹H регистрировали на приборе Mercury-200B (200 МГц) в CDCl₃ и DMSO-d₆, внутренний стандарт ТМС. ТСХ проводили на пластинках Silufol UV-254, элюент этилацетат–гексан, 1:1.

Квантово-химические расчеты проводили полуэмпирическим методом AM1 по программе MOPAC 6 [4] с полной оптимизацией геометрии реагентов, реакционной системы и продуктов реакции в режиме EF на уровне PRECISE.

Конденсация 4,6,6-триметил-3-циано-5,6-дигидро-2-пиранона с бензальдегидами (общий метод). Смесь пиранона **1**, бензальдегида **2–10** и NaOH в этаноле нагревают, перемешивая, до температуры кипения и кипятят 4 ч или выдерживают при комнатной температуре. Выпавший продукт типа аддукта реакции Михаэля отфильтровывают, не охлаждая реакционной смеси, после охлаждения до комнатной температуры отфильтровывают этенилпроизводное лактона. Оба продукта перекристаллизовывают из этанола.

Энтальпию реакции рассчитывали как разность между полной энергией конечного состояния системы и суммой полной энергии изолированных реагентов – аниона (ОН⁻ или NetC₍₃₎H₂⁻) и интермедиата.

Дополнительная информация об изменениях геометрии в ходе реакции может быть запрошена у авторов (*e-mail: misha@osi.lv*).

Работа выполнена при финансовой поддержке Латвийского совета по науке (Программа "Развитие современных методов органической химии с целью создания промышленного производства новых медицинских препаратов в Латвии").

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. L. Leite, D. Jansone, M. Veveris, H. Cirule, Y. Popelis, G. Melikyan, A. Avetisyan, E. Lukevics, *Eur. J. Med. Chem.*, **34**, 859 (1999).
2. A. Perjessy, A. Avetisyan, A. Aknazaryan, G. Melikyan, *Coll. Czech. Chem. Commun.*, **54**, 1666 (1989).
3. М. Флейшер, Д. Янсоне, Г. Андреева, Л. Лейте, Э. Лукевиц, *XГС*, 748 (2001).
4. J. J. P. Stewart, Program package MOPAC (QCPE N 455) version 6.
5. Jmol: <http://www.chem.columbia.edu/~gezelter>.
6. ChemCraft: <http://chemcraft.boom.ru>.
7. F. A. Allen, O. Kennard, D. G. Watson, *J. Chem. Soc., Perkin Trans 2*, No. 12, S1 (1987).
8. А. Розенблит, В. Голендер, *Логико-комбинаторные методы в конструировании лекарств*. Зинитне, Рига, 1983.
9. N. Veretennikova, A. Skorova, V. Kudryashova, A. Rozenblit, A. Barkans, Ya. Betinsh, V. Drboglav, L. Gitlina, Ya. Grinfelds, P. Mellis, D. Petersone, V. Shatokhin. SAR investigation of biologically active compounds using OREX expert system / In: *QSAR in Environmental Sciences – VII* / Ed. by Fei Chen & Gerrit Schuurmann, Setac/Setac Foundation, 1997, 115.
10. D. J. Fast, R. C. Lynch, R. W. Leu, *J. Leucocyt. Biol.*, **52**, 255 (1992).
11. P. J. Freshney, *Culture of Animal Cells (A Manual of Basic Technique)*. Wiley-Liss, New York, 1994, 296.

*Латвийский институт органического синтеза, Пуга LV-1006
e-mail: leite@osi.lv*

Поступило в редакцию 17.12.2003