

УДК 577.127:547.973

СИНТЕЗ, СТРОЕНИЕ И ПРОТИВОВОСПАЛИТЕЛЬНАЯ АКТИВНОСТЬ ФУНКЦИОНАЛЬНО-ЗАМЕЩЕННЫХ ХАЛКОНОВ И ИХ ПРОИЗВОДНЫХ

© 2019 г. О. А. Нуркенов^{a,b}, М. К. Ибраев^{a,*}, И. А. Щепеткин^{c,d},
А. И. Хлебников^{d,e}, Т. М. Сейлханов^f, А. Е. Аринова^b, М. Б. Исабаева^a

^a Карагандинский государственный технический университет, бул. Мира 56, Караганда, 100027 Казахстан
*e-mail: mkibr@mail.ru

^b Институт органического синтеза и углехимии Республики Казахстан, Караганда, Казахстан

^c Государственный университет штата Монтана, Бозман, США

^d Центр имени Н. М. Кижнера, Национальный исследовательский Томский политехнический университет, Томск, Россия

^e Алтайский государственный технический университет имени И. И. Ползунова, Барнаул, Россия

^f Кокишетауский государственный университет имени Ш. Уалиханова, Кокишетау, Казахстан

Поступило в Редакцию 4 февраля 2019 г.

После доработки 4 февраля 2019 г.

Принято к печати 10 февраля 2019 г.

Синтезированы функционально-замещенные халконы, пиразолины и флавононы и исследовано их строение методами спектроскопии ЯМР ¹H и ¹³C, в том числе с использованием экспериментов COSY (¹H–¹H) и НМРС (¹H–¹³C). Изучена противовоспалительная активность синтезированных халконов, пиразолинов и флавононов.

Ключевые слова: замещенный ароматический альдегид, халкон, пиразолин, флавонон, цитокин, транскрипционный фактор NF-κB

DOI: 10.1134/S0044460X19070023

Халконы представляют значительный интерес, обусловленный легкостью их синтеза, высокой фармакологической активностью, а также возможностью использования в качестве синтонов для получения многих биологически активных гетероциклических соединений, в частности пиразолинов и флавонов [1]. Соединения с халконовым фрагментом имеют значительную противоопухолевую, антибактериальную, противогрибковую, антивирусную, противомаларийную, антигипергликемическую, противовоспалительную и иммуномодулирующую активности, а также проявляют хемопротекторные и антиоксидантные свойства [2–12]. Кроме того, некоторые халконовые производные обладают способностью укреплять капилляры [6]. В этой связи синтез новых халконов и азотсодержащих гетероциклических соединений на их основе представляется важной задачей.

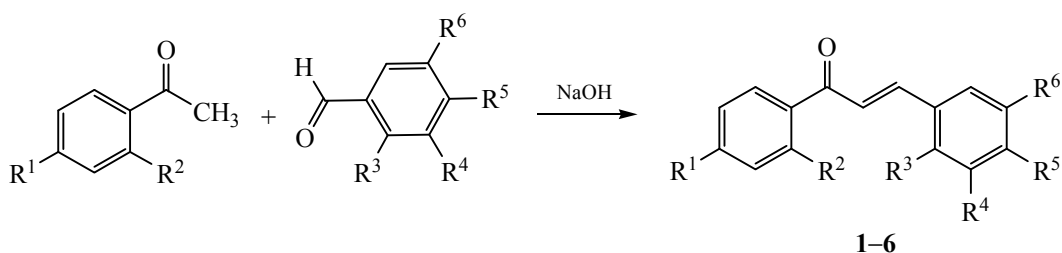
В настоящей работе нами изучено взаимодействие гидроксиацетофенонов с замещенными

ароматическими альдегидами в присутствии водно-спиртового раствора щелочи (конденсация Кляйзена–Шмидта). Реакцию проводили при эквимолярном соотношении реагентов в присутствии 40%-ного NaOH при комнатной температуре в течение 62–85 ч (схема 1). Ход реакции контролировали с применением тонкослойной хроматографии. Полученные халконы 1–6 представляли собой окрашенные порошкообразные вещества, растворимые в бензоле и спиртах.

Строение синтезированных халконов 1–6 доказано методами ИК и ЯМР ¹H, ¹³C спектроскопии. В ИК спектре халконов 1–6 наблюдаются достаточно интенсивные полосы поглощения в области 1595–1582 см⁻¹, которые соответствуют колебаниям связи С=C, сопряженной с карбонильной группой.

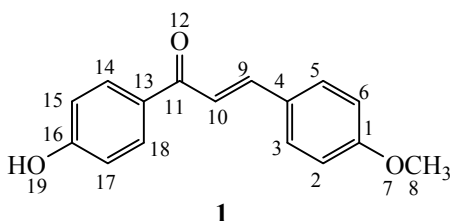
В спектре ЯМР ¹H соединения 1 в дейтерированном ДМСО проявляется высокоинтенсивный

Схема 1.



$R^1 = \text{OH}$, $R^2 = R^3 = R^4 = R^6 = \text{H}$, $R^5 = \text{OMe}$ (**1**); $R^1 = R^4 = R^5 = R^6 = \text{H}$, $R^2 = R^3 = \text{OH}$ (**2**); $R^1 = R^2 = \text{OH}$, $R^3 = R^4 = R^6 = \text{H}$, $R^5 = \text{OMe}$ (**3**); $R^1 = R^3 = R^4 = R^6 = \text{H}$, $R^2 = R^5 = \text{OH}$ (**4**); $R^1 = R^3 = R^6 = \text{H}$, $R^2 = R^5 = \text{OH}$, $R^4 = \text{OEt}$ (**5**); $R^1 = R^6 = \text{Br}$, $R^2 = R^4 = R^5 = \text{H}$, $R^3 = \text{OH}$ (**6**).

синглетный сигнал с химическим сдвигом 3.76 м. д. и интенсивностью 3H, относящийся к протонам метоксигруппы OCH_3 ⁸. Эквивалентные протоны метоксифенильного фрагмента $\text{H}^{2,6}$ и $\text{H}^{3,5}$ резонируют дублетными сигналами при 6.95 (2H, $^3J = 8.6$ Гц) и 7.77 м. д. (2H, $^3J = 8.6$ Гц) соответственно. Протоны при двойной связи H^9 и H^{10} проявляются дублетными сигналами при 7.74 и 7.62 м. д. с константой $^3J = 16.2$ Гц, что свидетельствует о *транс*-конфигурации связи $\text{C}=\text{C}$. Эквивалентные CH -протоны группы другой ароматической системы проявляются дублетными сигналами при 6.86 ($\text{H}^{15,17}$, $^3J = 8.9$ Гц) и 8.03 м. д. ($\text{H}^{14,18}$, $^3J = 8.9$ Гц). Уширенный синглетный сигнал при 10.39 м. д. свидетельствовал о наличии в соединении фенольной OH -группы.



В спектре ЯМР ^{13}C соединения **1** сигнал метоксигруппы наблюдается при 55.83 м. д. Сигналы при 114.87 ($\text{C}^{2,6}$), 115.88 ($\text{C}^{15,17}$), 131.05 ($\text{C}^{3,5}$), 131.57 м. д. ($\text{C}^{14,18}$) соответствуют атомам углерода ароматических систем. Четвертичным

(а)

углеродным атомам соответствуют сигналы с химическими сдвигами 161.62 (C^1), 128.04 (C^4), 129.84 (C^{13}) и 162.61 (C^{16}) м. д. Сигналы при 120.08 и 143.21 м. д. можно отнести к атомам углерода C^9 и C^{10} , связанным кратной связью. Наиболее слабый сигнал при 187.57 м. д. соответствует атому C^{11} карбонильной группы.

Строение соединения **1** было подтверждено также методами двумерной спектроскопии ЯМР COSY ^1H - ^1H и HMQC ^1H - ^{13}C , позволяющей установить спин-спиновые взаимодействия гомо- и гетероядерной природы. В спектрах ^1H - ^1H COSY соединения **1** наблюдаются спин-спиновые корреляции через три связи протонов ароматических систем, а также олефиновых протонов H^9 и H^{10} (рис. 1а). Простые взаимодействия между протонами и атомами углерода были установлены с помощью спектроскопии ^1H - ^{13}C HMQC (рис. 1б).

Реакция циклоконденсации гидразинов с α,β -ненасыщенными кетонами является важным синтетическим путем получения 1,2-азолов. Некоторые производные пиразолов проявляют свойства анальгетиков и ингибиторов агрегации тромбоцитов [13], обладают сильным антибактериальным [14] и анестезирующим [15] действием.

С целью дальнейшей функционализации полученных халконов **1-6** нами было изучено их

(б)

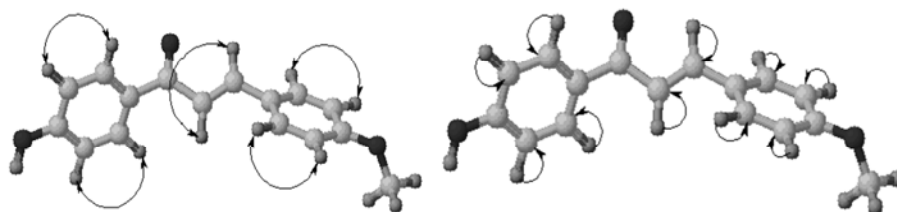


Рис. 1. Основные корреляции в спектрах COSY (а) и HMQC (б) соединения **1**.

взаимодействие с гидразингидратом. Обнаружено, что при кипячении халконов с гидразингидратом в этаноле происходит внутримолекулярная циклоконденсация промежуточного гидразона с образованием соответствующих производных пиразола **7–11** (схема 2).

Структура соединений **7–11** подтверждена методами ИК, ЯМР спектроскопии. Так, в спектрах ИК пиразолинов **7–11** отчетливо проявляется полоса средней интенсивности группы C=N пиразолинового ядра в области 1601–1605 см⁻¹. В спектре ЯМР ¹H 4-[5-(4-метоксифенил)-4,5-дигидро-1H-пиразол-3-ил]фенола **7** четыре группы сигналов в слабом поле соответствуют протонам 4-гидрокси- и 4-метоксифенильного фрагментов. Два дублета в области 7.40 и 7.23 м. д. соответствуют *орто*- и *мета*-протонам 4-гидроксифенильного фрагмента, а два дублета при 6.84 и 6.72 м. д. – *орто*- и *мета*-протонам 4-метоксифенильного фрагмента. Интенсивному синглету при 3.67 м. д. соответствуют протоны метоксигруппы. Следующая группа сигналов, представляющая собой триплет в области 4.63–4.68 м. д., соответствует метиновому протону пиразолинового фрагмента. Метиленовые протоны данного фрагмента резонируют в области 2.65–2.72 м. д. в виде двух дублетов. Слабый сигнал в области 9.67 м. д. относится к NH-протону пиразолинового фрагмента.

С учетом общности некоторых процессов биогенеза халконов и флавоноидов в растительном организме представляется интересным сочетание структурных особенностей данных соединений в одной молекуле для получения высокоэффективных биологически активных веществ [16, 17]. В связи с этим, нами были получены флавононы **12–15** из синтезированных 2-гидроксилсодержащих халконов под действием этилового спирта и каталитических количеств триэтиламина. Продолжительное кипячение в 95%-ном этаноле приводит

к образованию флавононов **12–15** (схема 3). Показано, что процесс превращения халконов в флавононы в спирте катализируется молекулами воды.

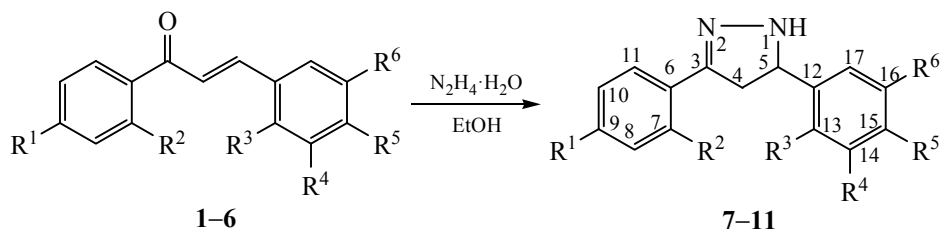
Строение флавононов **12–15** доказано методами ИК и ЯМР ¹H, ¹³C спектроскопии. Так, в спектре ЯМР ¹H флавонона **15** триплетный сигнал при 1.29 м. д. и мультиплет в области 3.98–4.03 м. д. относятся к протонам этоксигруппы при атомах C²⁰ и C¹⁹. Протоны метиленовых и СН-групп конденсированных ядер проявляются при 5.47 (H²), 2.69–3.31 (H³), 7.06 (H⁷), 7.55 (H⁸), 7.76 (H⁹) и 7.04 м. д. (H¹⁰). Для СН-групп фенильного фрагмента характерно резонирование при 6.77–6.90 м. д. В наиболее слабом поле при 9.00 м. д. наблюдается сигнал H²¹ гидроксильной группы.

Отнесение сигналов в спектрах ЯМР ¹³C было выполнено с помощью методики DEPT. Для отнесения сигналов в спектрах ЯМР ¹H применяли методики двумерной спектроскопии ЯМР COSY и TOCSY (рис. 2).

Для полученных халконов **1, 3–5**, пиразолинов **8, 9** и флавонов **12, 14** и **15** была проведена оценка их противовоспалительной и цитотоксической активности на культурах человеческих моноцитарных линий клеток MonoMac-6 и THP-1Blue. Результаты исследований приведены в таблице.

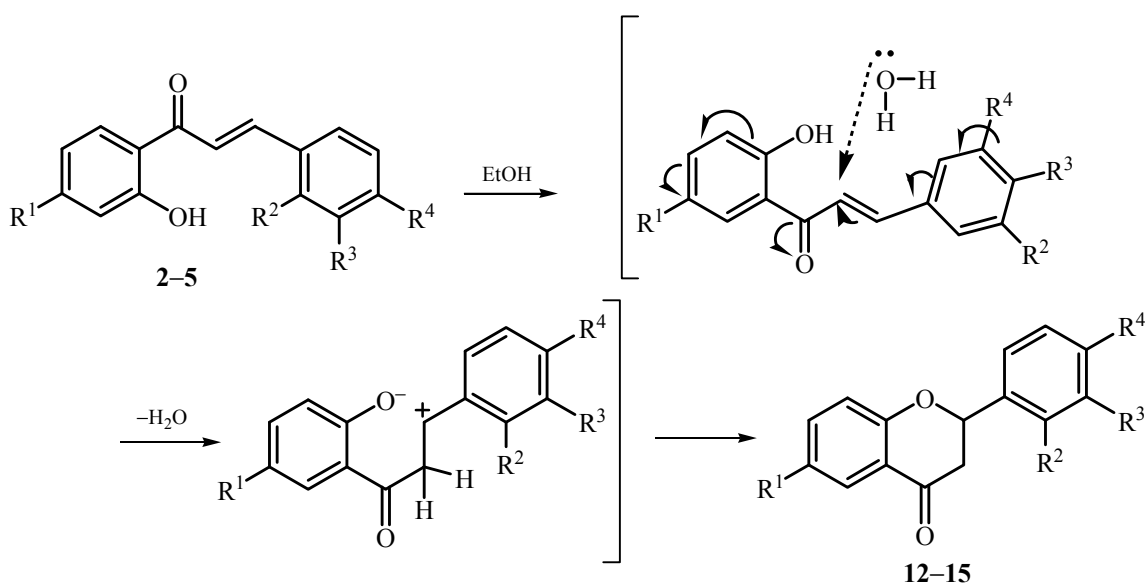
Установлено, что халкон **5** и флавоны **15** являются цитотоксичными в отношении моноцитарных клеток MonoMac-6, поэтому невозможно корректно оценить их противовоспалительный потенциал для этой клеточной культуры. Хотя пиразолин **9** и флавоны **14** подавляли продукцию противовоспалительных цитокинов интерлейкина-6 (ИЛ6) и фактор некроза опухоли (ФНО), вряд ли эти соединения могут рассматриваться как перспективные из-за их низкой активности (IC₅₀ > 30 мкМ.).

Схема 2.

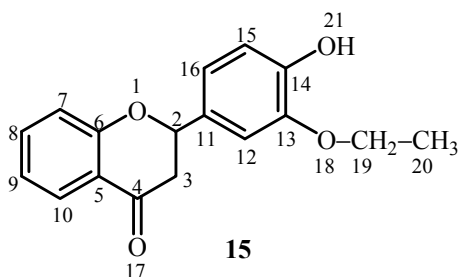


R¹ = OH, R² = R³ = R⁴ = R⁶ = H, R⁵ = OMe (**7**); R¹ = R⁴ = R⁵ = R⁶ = H, R² = R³ = OH (**8**); R¹ = R² = OH, R³ = R⁴ = R⁶ = H, R⁵ = OMe (**9**); R¹ = R³ = R⁴ = R⁶ = H, R² = R⁵ = OH (**10**); R¹ = R³ = R⁶ = H, R² = R⁵ = OH, R⁴ = OEt (**11**).

Схема 3.



$R^1 = R^3 = R^4 = H, R^2 = OH$ (12); $R^1 = OH, R^2 = R^3 = H, R^4 = OMe$ (13); $R^1 = R^2 = R^3 = H, R^4 = OH$ (14); $R^1 = R^2 = H, R^3 = OEt, R^4 = OH$ (15).



Халконы **1**, **3**, **4**, пиразолин **8**, а также флавоны **12** подавляли продукцию фактора некроза опухоли и/или интерлейкина-6. Механизм подавления продукции интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли этими соединениями, по-видимому, не зависит от транскрипционной активности NF-κB, так как ингибирование активности NF-κB, оцениваемой по уровню продукции щелочной фосфатазы в клетках THP-1Blue, было очень

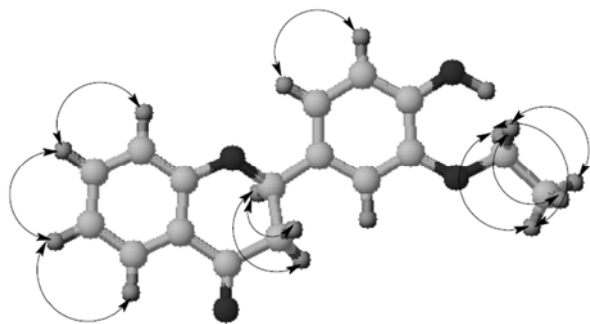


Рис. 2. Основные корреляции в спектрах COSY $^1H-^1H$ и TOCSY $^1H-^1H$ соединения **15**.

низким (соединения **3** и **4**) или отсутствовало (соединения **1**, **8**, **12**). Эти соединения, а также их близкие аналоги могут быть рекомендованы для последующего исследования противовоспалительной активности, поскольку они не обладают (**1**, **12**) или практически не обладают (**3**, **4**, **8**) цитотоксической активностью в интервале концентраций с найденными значениями IC_{50} в тесте подавления продукции цитокинов.

С целью сопоставления биологической активности с характеристиками соединений (SAR-анализ) мы рассчитали ряд физико-химических параметров молекул по аддитивным схемам, используемым в программе SuperChem 7. Были рассчитаны молекулярная поверхность (S), логарифм коэффициента распределения в системе октанол-вода (липофильность lgP), энергия гидратации (E_h) (см. таблицу), а также молекулярный объем (V) и поляризуемость (α). В соответствии с величинами каждого из двух видов биологической активности, полученными на клетках MonoMac-6, исследуемые соединения были разбиты на два класса – активные (A) и неактивные (или условно неактивные, N) для проведения линейного дискриминантного анализа с помощью программы STATISTICA 8 (см. таблицу). Соединение считалось активным, если для него величина IC_{50} не превышала 30 мкМ. Соединения **5** и **15** проявляли токсичность по

Противовоспалительная активность (*in vitro*), цитотоксичность и физико-химические параметры исследованных халконов, пиразолинов и флавононов

№	IC ₅₀ , мкМ.					S, Å ²	lgP	E _h , ккал/ моль
	клетки MonoMac-6			клетки THP-1Blue				
	ФНО ^a	ИЛ6 ^a	токсичность	щелочная фосфатаза	токсичность			
Халконы								
1	9.9 (A)	24.2 (A)	– ^b	– ^b	82.1	430.9	3.14	–11.97
3	15.6 (A)	18.5 (A)	75.0	51.2	36.5	430.5	2.85	–17.49
4	10.9 (A)	19.7 (A)	69.5	53.0	71.2	368.4	3.11	–16.12
5	17.4 (–)	– ^b (–)	32.1	48.4	27.8	442.5	3.20	–15.62
Пиразолины								
8	– ^b (N)	9.6 (A)	>60	– ^b	– ^b	311.8	2.90	–12.95
9	52.0 (N)	33.8 (N)	– ^b	– ^b	– ^b	406.1	2.64	–18.76
Флавононы								
12	35.0 (N)	15.5 (A)	– ^b	– ^b	– ^b	308.9	2.56	–8.78
14	51.0 (N)	50.0 (N)	– ^b	– ^b	– ^b	334.7	2.56	–10.86
15	24.5 (–)	9.0 (–)	35.5	>50	34.1	412.1	2.65	–10.43

^a Нет подавления продукции или цитотоксичности при концентрациях <100 мкМ.

^b В скобках отмечены соединения, считавшиеся активными (A, IC₅₀<30 мкМ.) или условно неактивными (N, IC₅₀>30 мкМ) при проведении классификационного анализа.

отношению к клеткам MonoMac-6, поэтому данные два соединения не использовались в процедуре линейного дискриминантного анализа. Для остальных халконов, пиразолинов и флавононов метод линейного дискриминантного анализа позволил найти наиболее важные признаки, согласно которым соединение может быть отнесено к одному из двух классов (A или N) по каждому из рассматриваемых видов активности (ФНО и ИЛ6). Несмотря на малое число соединений, были найдены статистически достоверные коэффициенты классификационных функций ($p < 0.05$).

$$\text{ФНО(A)} = -292.45 + 0.333S + 147.11\lg P, \quad (1)$$

$$\text{ФНО(N)} = -224.96 + 0.287S + 129.85\lg P. \quad (2)$$

Согласно общим принципам линейного дискриминантного анализа, смысл полученных классификационных функций (1) и (2) заключается в следующем. Для конкретного соединения подставляются его значения S и lgP в уравнения (1) и (2), и рассчитываются значения обеих функций. Затем, если ФНО(A) > ФНО(N), то соединение относится к классу активных по фактору некроза опухоли, иначе его следует отнести к классу

неактивных. Приведенные уравнения правильно классифицируют все 9 соединений (как активных, так и неактивных), для которых экспериментально определены классы N и A по уровню продукции фактора некроза опухоли (см. таблицу). Из выражений (1) и (2) видно, что увеличение как молекулярной поверхности, так и липофильности способствуют возрастанию активности, оцениваемой по величине подавления продукции фактора некроза опухоли, так как соответствующие коэффициенты имеют более высокие значения в уравнении (1), чем в уравнении (2).

Аналогично, все 9 соединений правильно классифицируются в отношении продукции интерлейкина-6 с помощью классификационных функций (3) и (4).

$$\text{ИЛ6(A)} = -124.74 + 1.012E_h + 89.95\lg P, \quad (3)$$

$$\text{ИЛ6(N)} = -99.28 + 0.535E_h + 77.94\lg P. \quad (4)$$

Физико-химические параметры V и α, также участвовавшие в поиске наилучших функций (1)–(4), оказались статистически незначимыми для классификации соединений. Для активности, оцениваемой по величине подавления продукции

интерлейкина-6 важной вновь оказалась величина липофильности, а также энергия гидратации E_h (менее отрицательные значения E_h способствуют повышению активности).

Таким образом, одним из главных параметров, влияющим на оба вида биологической активности, определенных на клетках MonoMac-6, является липофильность исследованных халконов, пирозолинов и флавононов. Интересно, что для величин $-lgIC_{50}$ (ФНО) соединений **1**, **3**, **4**, **9**, **12**, **14** наблюдается удовлетворительная линейная корреляция (5) со значениями lgP .

$$-lgIC_{50}(\text{ФНО}) = 1.327 + 0.948lgP, \quad (5)$$

$$r = 0.95, F = 35.7, s = 0.117.$$

Полученные данные могут свидетельствовать о существенном вкладе биодоступности (например, способности проникать через клеточные мембраны) в оба вида биологической активности, определенных на клетках MonoMac-6.

ЭКСПЕРИМЕНТАЛЬНАЯ ЧАСТЬ

Спектры ЯМР 1H и ^{13}C снимали на спектрометре JNN-ECA Jeol 400 (399.78 и 100.53 МГц соответственно) с использованием в качестве растворителя ДМСО- d_6 . Контроль за ходом реакции и чистотой полученных соединений осуществляли методом тонкослойной хроматографии на пластинках Silufol UV-254 в системе изопропиловый спирт–бензол–аммиак, 10:5:2. Пластинки проявляли парами иода.

Общая методика получения халконов 1–6. К 20 мл 40%-ного раствора гидроксида натрия при перемешивании и комнатной температуре прибавляли по каплям раствор 0.013 моль замещенного ацетофенона и 0.013 моль ароматического альдегида в 20 мл этанола. По мере прибавления альдегида реакционная смесь приобретала желтую окраску. Реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре в течение 62–95 ч, затем подкисляли разбавленной соляной кислотой до нейтральной среды и оставляли на ночь при температуре -15°C . Осадок отфильтровали, сушили и перекристаллизовывали из бензола.

(E)-1-(4-Гидроксифенил)-3-(4-метоксифенил)-проп-2-ен-1-он (1). Выход 36%, т. пл. $186\text{--}187^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 3.76 с (3H, H^8), 6.86 д (2H, $H^{15,17}$, $^3J = 8.9$ Гц), 6.95 д (2H, $H^{2,6}$, $^3J = 8.6$ Гц), 7.62 д (1H, H^{10} , $^3J = 16.2$ Гц), 7.74 д (1H, H^9 , $^3J =$

16.2 Гц), 7.77 д (2H, $H^{3,5}$, $^3J = 8.6$ Гц), 8.03 д (2H, $H^{14,18}$, $^3J = 8.9$ Гц), 10.39 уш. с (1H, OH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_C , м. д.: 55.83 (C^8), 114.87 ($C^{2,6}$), 115.88 ($C^{15,17}$), 120.08 (C^9), 128.04 (C^4), 129.84 (C^{13}), 131.05 ($C^{3,5}$), 131.57 ($C^{14,18}$), 143.21 (C^{10}), 161.62 (C^1), 162.61 (C^{16}), 187.57 (C^{11}).

(E)-1,3-Бис(2-гидроксифенил)проп-2-ен-1-он (2). Выход 84%, т. пл. $154\text{--}155^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 6.85 т (H, H^{14} , $^3J = 8.7$ Гц), 6.90–6.98 м (3H, $H^{4,6,10}$), 7.26 т (1H, H^{15} , $^3J = 8.2$ Гц), 7.51 т (1H, H^5 , $^3J = 7.8$ Гц), 7.81 д (1H, H^{17} , $^3J = 9.6$ Гц), 7.89 д (1H, H^{16} , $^3J = 15.6$ Гц), 8.07–8.13 м (2H, $H^{3,10}$). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_C , м. д.: 116.75 (C^{14}), 118.04 (C^{10}), 119.87 (C^6), 121.03 (C^4), 121.11 (C^{16}), 121.45 (C^2), 121.83 (C^{12}), 129.55 (C^{17}), 131.08 (C^3), 132.80 (C^{15}), 136.64 (C^5), 140.95 (C^{11}), 158.10 (C^{13}), 194.44 (C^8).

(E)-1-(2,4-Дигидроксифенил)-3-(4-метоксифенил)проп-2-ен-1-он (3). Выход 23.4%, т. пл. $175\text{--}176^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 3.78 с (3H, H^{20}), 6.08 д (1H, H^6 , $^4J = 2.3$ Гц), 6.26 д. д (1H, $H^{4_{Ar}}$, $^3J = 2.1$, 8.9 Гц), 6.97 д (2H, $H^{15,17}$, $^3J = 8.7$ Гц), 7.69–7.77 м (2H, $H^{11,12}$), 7.79 д (2H, $H^{14,18}$, $^3J = 8.7$ Гц), 8.01 д (1H, H^3 , $^3J = 9.2$ Гц). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_C , м. д.: 55.88 (C^{20}), 110.54 (C^6), 111.51 (C^4), 114.91 (C^2), 114.92 ($C^{15,17}$), 119.52 (C^{11}), 128.06 (C^{13}), 131.21 ($C^{14,18}$), 133.08 (C^{12}), 142.94 (C^3), 161.73 (C^{16}), 166.92 (C^1), 167.30 (C^5), 190.52 (C^8).

(E)-1-(2-Гидроксифенил)-3-(4-гидроксифенил)-проп-2-ен-1-он (4). Выход 37%, т. пл. $155\text{--}156^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 6.82 д (2H, $H^{13,17}$, $^3J = 8.7$ Гц), 6.94 м (1H, H^4), 6.96 д (1H, H^{11} , $^3J = 11.9$ Гц), 7.49 м (1H, H^3), 7.69–7.75 м (2H, $H^{5,6}$), 7.72 д (2H, $H^{14,16}$, $^3J = 8.7$ Гц), 8.5 д (1H, H^{10} , $^3J = 7.8$ Гц). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_C , м. д.: 116.37 (C^{13}), 116.67 (C^{17}), 118.39 (C^{11}), 119.60 (C^4), 121.20 (C^2), 126.17 (C^{12}), 131.05 (C^{10}), 131.87 (C^{14}), 131.94 (C^{16}), 136.53 (C^3), 146.10 ($C^{5,6}$), 161.12 (C^{15}), 162.51 (C^1), 194.13 (C^8).

(E)-1-(2-Гидроксифенил)-3-(3-этокси-4-гидроксифенил)проп-2-ен-1-он (5). Выход 72%, т. пл. $151\text{--}152^\circ\text{C}$. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 1.33 т (3H, H^9 , $^3J = 6.9$ Гц), 4.11 к (2H, H^8 , $^3J = 6.9$ Гц), 6.83 д (1H, H^{17} , $^3J = 8.2$ Гц), 6.93 т (1H, H^3 , $^3J = 8.2$ Гц), 6.97 д (1H, H^{12} , $^3J = 7.8$ Гц), 7.27 д. д (1H, H^{18} , $^3J = 8.2$, 1.8 Гц), 7.50 м (2H, $H^{4,6}$), 7.75 м (2H, $H^{19,20}$), 8.19 д (1H, H^{11} , $^3J = 7.8$ Гц). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_C , м. д.: 15.26 (C^9), 64.82 (C^8), 114.11 (C^4), 116.39 (C^{17}), 118.06 (C^{11}), 118.45 (C^3), 119.36 (C^{20}), 121.14 (C^{15}), 125.35 (C^{18}), 126.16 (C^5), 131.28 (C^{12}), 136.67 (C^6), 146.59 (C^{19}), 147.77 (C^1), 153.13 (C^2), 162.59 (C^{16}), 194.17 (C^{13}).

(E)-1-(4-Бромфенил)-3-(5-бром-2-гидрокси-фенил)проп-2-ен-1-он (6). Выход 35%, т. пл. 184–185°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 6.84 д (1H, H^3 , $^3J = 9.2$ Гц), 7.37 д. д (1H, H^2 , $^3J = 8.7$, 2.3 Гц), 7.73 д (2H, $\text{H}^{15,17}$, $^3J = 7.4$ Гц), 7.86–7.96 м (2H, $\text{H}^{6,10}$), 8.05 д (2H, $\text{H}^{14,18}$, $^3J = 8.3$ Гц), 8.11 д (1H, H^9 , $^3J = 2.3$ Гц). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_{C} , м. д.: 111.40 (C^1), 118.85 (C^3), 121.99 (C^{10}), 124.05 (C^5), 127.85 (C^{16}), 130.85 (C^6), 132.35 ($\text{C}^{15,17}$), 134.97 (C^2), 137.07 (C^{13}), 138.47 (C^9), 178.78 (C^{11}).

Общая методика получения замещенных пиразолинов 7–11. К 0.002 моль замещенного халкона в 10 мл этанола прибавляли 0.02 моль гидразингидрата. Смесь нагревали при температуре 70–80°C в течение 4 ч, затем охлаждали и разбавляли в 50 мл воды. Осадок отфильтровывали, промывали водой и перекристаллизовывали из этанола.

4-[5-(4-Метоксифенил)-4,5-дигидро-1H-пиразол-3-ил]фенол (7). Выход 53%, т. пл. 119–120°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.68 д. д (1H, H^{4ax} , $^2J = 16.4$, $^3J = 11.0$ Гц), 3.27 д. д (1H, H^{4eq} , $^2J = 16.4$, $^3J = 10.5$ Гц), 3.67 с (1H, H^{20}), 4.68 т (1H, H^5 , $^3J = 10.1$ Гц), 6.72 д (2H, $\text{H}^{8,10}$, $^3J = 8.7$ Гц), 6.84 д (2H, $\text{H}^{14,16}$, $^3J = 8.7$ Гц), 7.21 д (2H, $\text{H}^{13,17}$, $^3J = 8.7$ Гц), 7.40 д (2H, $\text{H}^{7,11}$, $^3J = 8.2$ Гц), 9.67 уш. с (1H, OH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_{C} , м. д.: 41.42 (C^4), 55.55 (C^5), 63.51 (C^{20}), 114.22 ($\text{C}^{14,16}$), 115.84 ($\text{C}^{8,10}$), 124.92 (C^6), 127.52 ($\text{C}^{13,17}$), 128.28 ($\text{C}^{7,11}$), 135.51 (C^{12}), 149.71 (C^3), 158.16 (C^{15}), 158.86 (C^9).

2,2'-(4,5-Дигидро-1H-пиразол-3,5-диил)фенол (8). Выход 72%, т. пл. 124–125°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.88 д. д (1H, H^{4ax} , $^2J = 16.6$, $^3J = 10.1$ Гц), 3.53 д. д (1H, H^{4eq} , $^2J = 16.6$, $^3J = 10.7$ Гц), 5.00 т (1H, H^5 , $^3J = 10.5$ Гц), 6.72–6.87 м (4H, $\text{H}^{8,10,14,16}$), 7.03–7.07 м (1H, H^{11}), 7.15–7.18 м (1H, H^{17}), 7.25 т (2H, $\text{H}^{9,15}$, $^3J = 7.8$ Гц), 7.50 уш. с. (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_{C} , м. д.: 40.01 (C^4), 57.67 (C^5), 115.63 (C^8), 115.91 (C^{14}), 116.41 (C^{10}), 117.45 (C^{16}), 119.50 ($\text{C}^{6,12}$), 127.38 (C^{17}), 128.06 (C^{15}), 128.54 (C^9), 130.00 (C^{11}), 153.46 (C^3), 155.33 (C^{13}), 157.28 (C^7).

4-[5-(4-Метоксифенил)-4,5-дигидро-1H-пиразол-3-ил]бенз-1,3-диол (9). Выход 37%, т. пл. 149–150°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.84 д. д (1H, H^{4ax} , $^2J = 11.0$, $^3J = 11.0$ Гц), 3.43 д. д (1H, H^{4eq} , $^2J = 11.0$, $^3J = 5.3$ Гц), 3.70 с (3H, H^{21}), 4.68 т (1H, H^5 , $^3J = 10.5$ Гц), 6.27 м (2H, $\text{H}^{8,10}$), 6.87 д (2H, $\text{H}^{14,16}$, $^3J = 8.7$ Гц), 7.05 д (1H, H^{11} , $^3J = 8.7$ Гц), 7.27 д (2H, $\text{H}^{13,17}$, $^3J = 8.7$ Гц), 11.22 уш. с (1H, NH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ , м. д.: 41.59 (C^4), 55.62 (CH_3), 61.86 (C^5), 102.92 (C^8),

107.50 (C^{10}), 109.44 (C^6), 114.35 ($\text{C}^{14,16}$), 128.39 ($\text{C}^{13,17}$), 129.40 (C^{11}), 134.76 (C^{12}), 153.87 (C^3), 159.09 (C^9), 159.74 (C^{15}), 162.10 (C^7).

2-[5-(4-Гидроксифенил)-4,5-дигидро-1H-пиразол-5-ил]фенол (10). Выход 89%, т. пл. 110–111°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.89 д. д (1H, H^{4ax} , $^2J = 16.2$, $^3J = 10.8$ Гц), 3.47 д. д (1H, H^{4eq} , $^2J = 16.2$, $^3J = 11.0$ Гц), 4.69 т (1H, H^5 , $^3J = 9.8$ Гц), 6.70 д (2H, $\text{H}^{14,16}$, $^3J = 7.3$ Гц), 6.81–6.87 м (2H, $\text{H}^{8,10}$), 7.13–7.19 м (3H, $\text{H}^{9,13,17}$), 7.24 д (2H, H^{11} , $^3J = 7.3$ Гц), 7.68 уш. с (1H, NH), 9.35 с (1H, OH), 11.16 с (1H, OH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_{C} , м. д.: 41.24 (C^4), 62.36 (C^5), 115.68 ($\text{C}^{14,16}$), 116.23 (C^8), 117.35 (C^6), 119.65 (C^{10}), 128.25 (C^{11}), 128.37 ($\text{C}^{13,17}$), 130.17 (C^9), 132.79 (C^{12}), 153.06 (C^3), 157.22 (C^{15}), 157.26 (C^7).

2-Этоксид-4-[3-(2-гидроксифенил)-4,5-дигидро-1H-пиразол-5-ил]фенол (11). Выход 93%, т. пл. 89–90°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 1.27 т (3H, H^{21} , $^3J = 7.3$ Гц), 2.92 д. д (1H, H^{4ax} , $^2J = 16.7$, $^3J = 11.0$ Гц), 3.49 д. д (1H, H^{4eq} , $^2J = 16.7$, $^3J = 11.0$ Гц), 3.96 к (2H, H^{20} , $^3J = 6.7$ Гц), 4.69 т (1H, H^5 , $^3J = 11.0$ Гц), 6.69–6.74 м (2H, $\text{H}^{10,14}$), 6.82–6.92 м (3H, $\text{H}^{8,13,17}$), 7.16 д (1H, H^{11} , $^3J = 7.3$ Гц), 7.25 т (1H, H^9 , $^3J = 7.3$ Гц), 7.71 с (1H, NH), 8.87 уш. с (1H, OH), 11.16 с (1H, OH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_{C} , м. д.: 15.32 (C^{21}), 41.31 (C^4), 62.65 (C^5), 64.37 (C^{20}), 112.75 (C^{17}), 115.88 (C^{10}), 116.23 (C^8), 117.37 (C^6), 119.65 (C^{13}), 119.69 (C^{14}), 128.26 (C^9), 130.18 (C^{11}), 133.29 (C^{12}), 146.68 (C^{15}), 147.17 (C^{16}), 153.16 (C^3), 157.26 (C^7).

Общая методика получения флаванонов 12–15. Смесь 0.001 моль замещенного халкона и каталитического количества триэтиламина в 15 мл 95%-ного этанола кипятили в течение 8 ч. Осадок отфильтровывали и сушили при комнатной температуре.

2-(2-Гидроксифенил)флаван-4-он (12). Выход 94%, т. пл. 147–148°C. Спектр ЯМР ^1H , δ , м. д.: 2.76 д. д (1H, H^{3ax} , $^2J = 16.9$, $^3J = 2.7$ Гц), 3.14 д. д (1H, H^{3eq} , $^2J = 16.9$, $^3J = 13.3$ Гц), 5.75 д. д (1H, H^2 , $^3J = 13.3$, 2.8 Гц), 6.77–6.83 м (3H, $\text{H}^{13,14,15}$), 7.05 д (1H, H^{16} , $^3J = 7.8$ Гц), 6.86 д (1H, H^7 , $^3J = 8.2$ Гц), 7.13 т (1H, H^{10} , $^3J = 8.2$ Гц), 7.49 т (1H, H^8 , $^3J = 7.8$ Гц), 7.54 т (1H, H^9 , $^3J = 6.9$ Гц), 8.09 с (1H, OH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_{C} , м. д.: 43.02 (C^3), 74.85 (C^2), 116.31 (C^{13}), 118.27 (C^5), 118.71 (C^7), 119.78 (C^{15}), 121.64 (C^8), 122.07 (C^9), 125.58 (C^{16}), 126.89 (C^{10}), 127.34 (C^{14}), 130.04 (C^{11}), 136.79 (C^{12}), 154.84 (C^6), 162.03 (C^4).

7-Гидрокси-2-(4-метоксифенил)флаван-4-он (13). Выход 76%, т. пл. 146–147°C. Спектр ЯМР ^1H ,

δ , м. д.: 2.59 д. д (1H, H^{3ax} , $^2J = 16.8$, $^3J = 2.8$ Гц), 3.08 д. д (1H, H^{3eq} , $^2J = 16.8$, $^3J = 16.1$ Гц), 3.71 с (3H, H^{20}), 5.45 д. д (1H, H^2 , $^3J = 12.8$, 2.3 Гц), 6.29 с (1H, H^7), 6.46 д (1H, H^9 , $^3J = 8.0$ Гц), 6.97 д (2H, $H^{13,15}$, $^3J = 8.2$ Гц), 7.39 д (2H, $H^{12,16}$, $^3J = 8.7$ Гц), 8.14 д (1H, H^{10} , $^3J = 8.7$ Гц), 10.62 уш. с (1H, OH^{18}). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_C , м. д.: 43.67 (C^3), 55.65 (C^{20}), 79.25 (C^2), 103.09 (C^7), 111.08 (C^9), 114.33 ($C^{13,15}$), 114.94 (C^5), 128.74 ($C^{12,16}$), 131.54 (C^{10}), 133.51 (C^{11}), 159.85 (C^{14}), 165.16 (C^6), 166.34 (C^8), 190.59 (C^4).

2-(4-Гидроксифенил)флавонон-4-он (14). Выход 95%, т. пл. 184–185°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 2.73 д. д (1H, H^{3ax} , $^2J = 16.7$, $^3J = 3.2$ Гц), 3.18 д. д (1H, H^{3eq} , $^2J = 16.7$, $^3J = 12.8$ Гц), 5.48 д. д (1H, H^2 , $^3J = 12.8$, 2.8 Гц), 6.77 д (2H, $H^{13,15}$, $^3J = 8.2$ Гц), 7.30 д (2H, $H^{12,16}$, $^3J = 8.3$ Гц), 7.00–7.05 м (2H, $H^{7,9}$), 7.52 т (1H, H^8 , $^3J = 8.2$ Гц), 7.75 д (1H, H^{10} , $^3J = 7.9$ Гц), 9.48 уш. с (1H, OH^{18}). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_C , м. д.: 43.94 (C^3), 79.40 (C^2), 115.82 (C^{13}), 115.92 (C^{15}), 118.76 ($C^{7,9}$), 121.19 (C^5), 128.54 (C^{12}), 128.91 (C^{16}), 129.69 (C^{11}), 136.80 (C^8), 158.19 (C^{14}), 161.77 (C^6), 192.40 (C^4).

2-(3-Этоксифенил)-4-гидроксифенилфлавонон-4-он (15). Выход 96%, т. пл. 127–128°C. Спектр ЯМР 1H , δ , м. д.: 1.29 т (3H, H^{20} , $^3J = 6.9$ Гц), 2.71 д. д (1H, H^{3ax} , $^2J = 17.0$, $^3J = 2.7$ Гц), 3.26 д. д (1H, H^{3eq} , $^2J = 17.0$, $^3J = 13.3$ Гц), 4.00 к (2H, H^{19} , $^3J = 6.9$ Гц), 5.47 д. д (1H, H^2 , $^3J = 12.8$, 2.8 Гц), 6.78 д (1H, H^{16} , $^3J = 8.2$ Гц), 6.89 д (1H, H^{12} , $^3J = 8.2$ Гц), 7.02–7.06 м (3H, $H^{7,10,15}$), 7.53 т (1H, H^8 , $^3J = 8.2$ Гц), 7.76 т (1H, H^9 , $^3J = 7.8$ Гц), 9.00 с (1H, OH). Спектр ЯМР ^{13}C , δ_C , м. д.: 15.29 (C^{20}), 44.03 (C^3), 64.55 (C^{19}), 79.57 (C^2), 113.10 (C^{12}), 115.86 (C^{15}), 118.57 (C^7), 120.20 (C^{16}), 121.15 (C^5), 121.81 (H^9), 126.81 (C^{10}), 130.18 (C^{11}), 136.71 (C^8_a), 147.20 (C^{14}), 147.77 (C^{13}), 161.76 (C^6), 192.47 (C^4).

Методика биологического тестирования. Противовоспалительный эффект (*in vitro*) тестируемых соединений был оценен как способность соединения подавлять липополисахарид-индуцированную продукцию провоспалительных цитокинов интерлейкина-6 и фактора некроза опухоли в моноцитарных клетках MonoMac-6, а также NF- κ B-зависимой продукции щелочной фосфатазы в трансфицированных моноцитарных клетках THP-1Blue. Клетки были обработаны тестируемым соединением в течение 30 мин, затем в культуру клеток вносили бактериальный липополисахарид, выделенный из *Escherichia coli* (Sigma-Aldrich, США) в конечной

концентрации 0.5 мкг/мл. После 24-часовой инкубации клеток в CO₂-инкубаторе (37°C) концентрации цитокинов в клеточных супернатантах были измерены при помощи иммуноферментного анализа, а продукция щелочной фосфатазы была измерена при помощи специфического субстрата Quanti-Blue™ (Promega, США). Уровень цитотоксичности исследуемых соединений был оценен при помощи хемилюминесцентного набора CellTiter-Glo™ (Promega, США). Эффективная концентрация, вызывающая подавление биологического ответа (продукция цитокинов и щелочной фосфатазы, или цитотоксичность) на 50% (IC₅₀) была найдена при помощи регрессионного анализа с использованием дозозависимых кривых (не менее 5 концентраций).

Молекулярное моделирование и SAR-анализ.

Структурные модели исследуемых молекул построены с помощью программы HyperChem 7 (Hypercube, Inc., Gainesville, FL, USA). Физико-химические параметры (S , $\lg P$, E_h , V , α) соединений **1**, **3–5**, **8–10**, **12**, **14**, **15** вычислены с применением модуля QSAR, встроенного в HyperChem 7. Линейный дискриминантный анализ и нахождение регрессионной модели (5) выполнялись с помощью пакета программ STATISTICA 8 (StatSoft, Inc., Tulsa, OK, USA).

ФОНДОВАЯ ПОДДЕРЖКА

Работа выполнена при поддержке Министерства образования и науки Российской Федерации (проект № 4.6660.2017/8.9) и Министерства образования и науки Республики Казахстан (проект № AP05133157).

КОНФЛИКТ ИНТЕРЕСОВ

Авторы заявляют об отсутствии конфликта интересов.

СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

1. Daskiewicz J.B., Comte G., Barron D., Di Pietro A., Thomasson F. // Tetrahedron Lett. 1999. Vol. 40. P. 7095. doi 10.1016/S0040-4039(99)01461-6
2. Miranda C.L., Aponso G.L.M., Stevens J.F., Deinzer M.L., Buhler D.R. // J. Agric. Food Chem. 2000. N 48. P. 3876. doi 10.1021/jf0002995
3. Sivakumar P.M., Prabhakar P.K., Doble M. // Med. Chem. Res. 2011. Vol. 20. N 4. P. 482. doi 10.1007/s00044-010-9342-1

4. Tiwari K.N., Monserrat J.P., Arnaud Hequet A., Ganem-Elbaz C., Cresteil T., Jaouen G., Vessières A., Hillard E.A., Jolivald C. // Dalton Trans. 2012. Vol. 41. P. 6451. doi 10.1039/C2DT12180H
5. Dao T.T., Nguyen P.H., Lee H.S., Kim E., Park J., Lim S., Oh W.K. // Bioorg. Med. Chem. Lett. 2011. Vol. 21. N 1. P. 294. doi 10.1016/j.bmcl.2010.11.016
6. Hsieh H.K., Tsao L.T., Wang J.P. // J. Pharm. Pharmacol. 2000. Vol. 52. N 2. P. 163. doi 10.1211/0022357001773814
7. Awasthi S.K., Mishra N., Kumar B., Sharma M., Bhattacharya A., Mishra L.C., Bhasin V.K. // Med. Chem. Res. 2009. Vol. 18. N 6. P. 407. doi 10.1007/s00044-008-9137-9
8. Achanta G., Modzelewska A., Feng L., Khan S.R., Huang P.A. // Mol. Pharmacol. 2006. Vol. 70. N 1. P. 426. doi 10.1124/mol.105.021311
9. Barford L., Kemp K., Hansen M., Kharazmi A. // Int. Immunopharmacol. 2002. Vol. 2. P. 545. doi 10.1016/S1567-5769(01)00202-8
10. Satyanarayana M., Tiwari P., Tripathi K., Srivastava A.K., Pratap R. // Bioorg. Med. Chem. 2004. Vol. 12. N 5. P. 883. doi 10.1016/j.bmc.2003.12.026
11. Hamdi N., Fischmeister C., Puerta M.C., Valerga P. // Med. Chem. Res. 2011. Vol. 20. N 4. P. 522. doi 10.1007/s00044-010-9326-1
12. Lahtchev K.L., Batovska D.I., Parushev S.P., Ubiyovk V.M., Sibirny A.A. // Eur. J. Med. Chem. 2008. Vol. 43. N 10. P. 2220. doi 10.1016/j.ejmech.2007.12.027
13. Takagi K., Tanaka M., Murakami Y., Morita H., Aotsuka T. // Eur. J. Med. Chem. Chim. Ther. 1986. Vol. 21. P. 65.
14. Ankhivala M.D., Naik H.B. // J. Indian Chem. Soc. 1990. Vol. 67. N 3. P. 258; C. A. 1991. Vol. 4. P. 816.
15. Kaname T., Masaaki T., Hikari M., Kuniyoshi O., Katsuyuki I., Naoki N., Masayuki O. // Eur. J. Med. Chem. 1987. Vol. 22. P. 239. doi 10.1016/0223-5234(87)90055-9
16. Литвиненко В.И. Природные флавоноиды. Харьков: ГНЦЛС, 1995. 56 с.
17. Айтмамбетов А., Кубжетерова А.А. // Биоорг. хим. 2002. Т. 28. № 2. С. 189; Aitmambetov A., Kubzhetterova A. // Russ. J. Bioorg. Chem. 2002. Vol. 28. P. 165. doi 10.1023/A:1015081726977

Synthesis, Structure and Anti-Inflammatory Activity of Functionally Substituted Chalcones and Their Derivatives

O. A. Nurkenov^{a,b}, M. K. Ibraev^{a,*}, I. A. Schepetkin^{c,d},
A. I. Khlebnikov^{d,e}, T. M. Seilkhanov^f, A. E. Arinova^b, and M. B. Isabaeva^a

^a Karaganda State Technical University, bul. Mira 56, Karaganda, 100027 Kazakhstan
*e-mail: mkibr@mail.ru

^b Institute of Organic Synthesis and Coal Chemistry of the Republic of Kazakhstan, Karaganda, Kazakhstan

^c Department of Immunology and Infectious Diseases, Montana State University, Bozeman, Montana, United States

^d N. Kizhner Center, National Research Tomsk Polytechnic University, Tomsk, Russia

^e I.I. Polzunov Altai State Technical University, Barnaul, Russia

^f Sh. Ualikhanov Kokshetau State University, Kokshetau, Kazakhstan

Received February 4, 2019; revised February 4, 2019; accepted February 10, 2019

Functionally substituted chalcones, pyrazolines and flavonones were synthesized. Their structure was studied using ¹H and ¹³C NMR spectroscopy methods, including COSY and HMQC experiments. Anti-inflammatory activity of the synthesized chalcones, pyrazolines and flavonones was evaluated.

Keywords: substituted aromatic aldehydes, chalcone, pyrazoline, flavonone, cytokine, transcription factor NF-κB