

УДК 547.832.7

DOI 10.29039/2413-1725-2024-10-2-297-308

СИНТЕЗ НОВЫХ СОЕДИНЕНИЙ В РЯДУ 1,4-ОКСАЗИНО[2,3,4-*l*l]ХИНОЛИН-2,3-ДИОНОВ, ИССЛЕДОВАНИЕ ИХ БИОЛОГИЧЕСКОЙ АКТИВНОСТИ *IN SILICO* И *IN VITRO*

Медведева С. М.¹, Бондаренко К. А.¹, Шихалиева К. Д.², Шихалиев Х. С.¹

¹ФГБОУ ВО Воронежский государственный университет, Воронеж, Россия

²ФГБОУ ВО Воронежский государственный медицинский университет им. Н. Н. Бурденко,
Воронеж, Россия

E-mail: kseeniabondarenko@mail.ru

Окислительной рециклизацией различных пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-дионов надсерной кислотой получены 5,5,7-триметил-6,7-дигидро-2*H*-[1,4]оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3(5*H*)-дионы с хорошими выходами (63–79 %) и охарактеризованы спектральными методами. Для менее гидрированных аналогов – 4,4,6-триметил-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-дионов – в этих условиях происходят побочные процессы, приводящие к осмолению реакционной массы. Прогноз *in silico* биологической активности с помощью веб-ресурса PASS Online указал на новизну структуры синтезированной матрицы 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3-дионов по отношению к структурам известных лекарственных препаратов. Анализ *in vitro* показал, что 5,5,7-триметил-6,7-дигидро-5*H*-[1,4]оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3-дион умеренно ингибирует фактор свертывания крови XIa.

Ключевые слова: трициклические хинолины, окислительная рециклизация, пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-дион, 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3(5*H*)-дион, антикоагулянт.

ВВЕДЕНИЕ

Трициклические соединения, в которых фрагмент гидрохинолина (с частично или полностью гидрированным пиридиновым циклом) аннелирован по связям *i* и *j* с оксазиновым циклом, проявляют разнообразную фармакологическую активность, в том числе им свойственны сердечно-сосудистые, антидепрессивные, антибактериальные, противоопухолевые и противовоспалительные свойства [1, 2]. В частности, производные 1,4-оксазинохинолинов используются в медицине в качестве эффективных бактерицидных агентов [3–5]. В настоящее время широко применяется антибактериальное средство группы фторхинолонов второго поколения – офлоксацин (рис.1) [6].

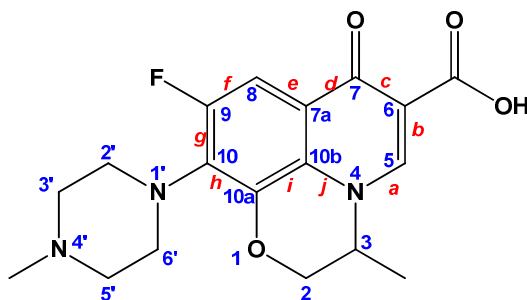


Рис. 1. Структурная формула офлоксацина

Также подтверждено, что в ряду 1,4-оксазинохинолинов есть вещества, которые можно использовать для снижения невропатических болей и воспалительной активности [7]. Вследствие этого является актуальным получение новых производных в ряду частично гидрированных 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов. При этом аннелирование хинолинового цикла к 1,4-оксазиновому проблематично из-за низкой устойчивости последнего. Более предпочтительной является стратегия, заключающаяся в достраивании оксазинового цикла к устойчивому хинолиновому фрагменту.

В литературе описаны реакции окислительной рециклизации производных изатина в присутствии сильного окисляющего агента – *m*-хлорнадбензойной кислоты (МСРВА) – с образованием 1,3-оксазин-2,4-дионов [8, 9] или 1,4-оксазин-2,3-дионов, если в ароматическом цикле присутствуют электронодонорные заместители [10, 11].

Нами ранее [12, 13] установлено, что окисление трициклических аналогов изатина – пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-дионов (содержащих электронодонорные и электроноакцепторные заместители, а также кратную связь в гидропиридиновом цикле) *m*-хлорнадбензойной кислотой при комнатной температуре приводит только к получению 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолин-1,3-дионов. Синтезировать 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3-дионы рециклизацией под действием *m*-хлорнадбензойной кислоты в различных условиях не удалось [13]. Аннелирование 1,4-оксазинового фрагмента к системе гидрохинолина было осуществлено нами при взаимодействии 8-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2-дигидрохинолина **1f** и 8-гидрокси-2,2,4-триметил-1,2,3,4-тетрагидрохинолина **2g** с оксалилхлоридом (рис. 2) [14].

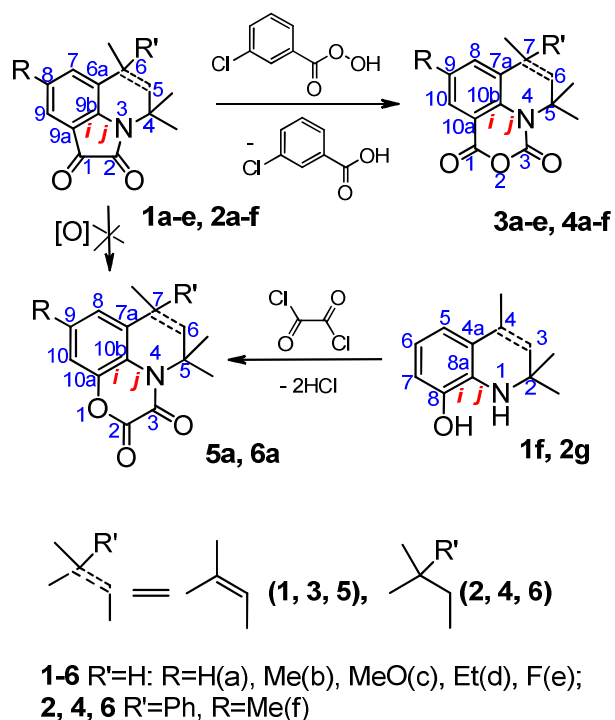


Рис. 2. Синтез замещенных 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов **3a-e**, **4a-f** и 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов **5a**, **6a**

Также, ранее нами [15] были разработаны условия для получения 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3-диона **8** при окислении 5,6-дигидро-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-диона **7** пероксодисульфатом натрия в концентрированной серной кислоте (рис. 3).

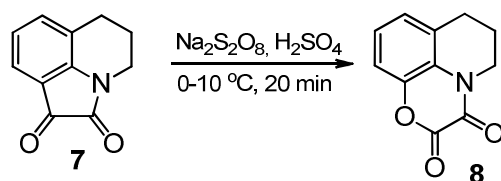


Рис. 3. Окислительная трансформация пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-диона **7**, приводящая к получению 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов **8**

В данной работе, с целью получения новых соединений в ряду замещенных 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов нами изучена реакция окислительной рециклизации различных пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-дионов надсерноокислым натрием в серной

кислоте, а также проведена первичная оценка биологической активности полученных соединений *in silico* и *in vitro*.

МАТЕРИАЛЫ И МЕТОДЫ

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C зарегистрированы на приборе Bruker DRX-500 (с рабочими частотами 500.13 и 125.75 МГц, соответственно) в импульсном Фурье-режиме в CDCl_3 . В качестве внутреннего стандарта использован ТМС. Отнесение сигналов проведено относительно остаточных сигналов протона дейтерорастворителя. Масс-спектры записаны на приборе Finnigan MAT Incos 50 при непосредственном введении образца в источник ионов при 100–150 °С, электронная ионизация проводилась при напряжении 70 эВ. Температуры плавления определены на приборе ПТП-М. Контроль за индивидуальностью, чистотой реагентов и полученных веществ, а также за ходом протекания реакции осуществлен методом ТСХ на пластинках Silufol UV-254. В качестве элюента использована смесь хлороформ–этилацетат в соотношении 8:2, проявление хроматограмм осуществлено в УФ-свете с длиной волны 240 нм и парах йода. Исходные соединения **9a-c** синтезированы по разработанным нами ранее методикам [16]. В работе использованы коммерчески доступные реагенты ВЕКТОН, Acros Organics.

Для исследования ингибирования тромбина и факторов свертывания крови Ха и Хаа исследуемыми соединениями измерена кинетика гидролиза специфичных по отношению к каждому из этих ферментов субстратов в присутствии тестируемого вещества. В случае фактора Ха использован специфичный низкомолекулярный хромогенный субстрат S2765 (Z-D-Arg-Gly-Arg-pNA·2HCl, Chromogenix, Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421, USA), для фактора Хаа субстрат S2366 (pyroGlu-Pro-Arg-pNA·HCl, Chromogenix, Instrumentation Laboratory Company, Lexington, MA 02421, USA), для тромбина был использован субстрат Tos-Gly-Pro-Arg-NH-Ph [17].

Общая методика синтеза 9-R-5,5,7-триметил-6,7-дигидро-2H-[1,4]оксазино[2,3,4-ij]хинолин-2,3(5H)-дионов 10a-c.

Тонкоизмельченный порошок 0,005 моль соответствующего пирролохинолиндииона **9a-c** добавляли в раствор 0,0075 моль пероксодисульфата натрия в 10 мл серной кислоты небольшими порциями в течение 10 мин при температуре 0–10 °С. Реакционную смесь выдерживали при комнатной температуре 15 мин, выливали на лёд, образовавшийся практически неокрашенный осадок отфильтровывали, промывали водой, сушили и перекристаллизовывали из CHCl_3 . Получали 9-R-5,5,7-триметил-6,7-дигидро-5H-[1,4]оксазино[2,3,4-ij]хинолин-2,3-дионы **10a-c**.

5,5,7-триметил-6,7-дигидро-5H-[1,4]оксазино[2,3,4-ij]хинолин-2,3-дион (10a). Выход – 0,97 г., 79 % (выход(лит.) – 1,01 г., 86 %; [14]), практически неокрашенный порошок, $T_{\text{пл}} = 162\text{--}163^\circ\text{C}$ ($T_{\text{пл}}(\text{лит.}) - 161\text{--}162^\circ\text{C}$ [14]). Спектр ^1H , δ , м.д.: 1.42 (д, $J=6.7$ Гц, 3H, CH_3); 1.67 (с, 6H, $\text{C}(\text{CH}_3)_2$); 1.87 (д, $J=4.0$ Гц, 1H, CH_2); 1.91 (д, $J=4.0$ Гц, 1H, CH_2); 2.96–3.03 (м, 1H, CH); 7.14 (т, $J=8.4$ Гц, 1H, H-9Ar); 7.20 (д, $J=8.4$ Гц, 1H, H-8Ar); 7.26 (д, $J=8.4$ Гц, 1H, H-10Ar). Спектр ^{13}C , δ , м.д.: 19.3, 23.7, 26.5, 27.6,

46.8, 59.1, 115.7, 122.5, 123.1, 123.9, 132.1, 139.7, 150.1, 153.0. Масс, m/z (%): 245 ([M+], (64)), 217 ([M-CO] (34)), 202 ([M-CO-CH₃] (100)), 190 ([M-CO-CH₃-C] (13)), 162 ([M-CO-CH₃-C-CO] (64)). Найдено, % С 68.58; Н 6.25; N 5.85. C₁₄H₁₅NO₃. Вычислено, % С 68.50; Н 6.12; N 5.71.

5,5,7,9-тетраметил-6,7-дигидро-2H-[1,4]оксаино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3(5H)-дион (10b). Выход – 0.92 г., 71%, практически неокрашенный порошок, T_{пл} = 163–164°C. Спектр ¹H, δ, м.д.: 1.41 (д, J=6.6 Гц, 3H, CH₃); 1.79 (с, 6H, C(CH₃)₂); 1.87 (д, J=4.0 Гц, 1H, CH₂); 1.90 (д, J=4.0 Гц, 1H, CH₂); 2.35 (с, 3H, 9-CH₃); 2.94–3.00 (м, 1H, CH); 6.93 (с, 1H, H-8Ar); 6.98 (с, 1H, H-10Ar). Спектр ¹³C, δ, м.д.: 19.3, 20.7, 23.5, 26.3, 27.6, 46.8, 58.9, 115.7, 120.5, 123.2, 131.6, 134.1, 139.5, 150.0, 153.3. Масс, m/z (%): 259 ([M+], (31)), 231 ([M-CO] (25)), 216 ([M-CO-CH₃] (65)), 204 ([M-CO-CH₃-C] (12)), 176 ([M-CO-CH₃-C-CO] (100)). Найдено, % С 69.51; Н 6.63; N 5.30. C₁₅H₁₇NO₃. Вычислено, % С 69.42; Н 6.56; N 5.40.

5,5,7-триметил-9-фтор-6,7-дигидро-2H-[1,4]оксаино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3(5H)-дион (10c). Выход – 0.83 г., 63%, практически неокрашенный порошок, T_{пл} = 154–155°C. Спектр ¹H, δ, м.д.: 1.41 (д, J=6.6 Гц, 3H, CH₃); 1.79 (с, 6H, C(CH₃)₂); 1.90 (д, J=4.0 Гц, 1H, CH₂); 1.93 (д, J= 4.0 Гц, 1H, CH₂); 2.97–3.02 (м, 1H, CH); 6.86–6.89 (м, 1H, H-8Ar); 6.92–6.95 (м, 1H, H-10Ar). Спектр ¹³C, δ, м.д.: 19.1, 23.6, 26.7, 27.5, 46.4, 59.2, 103.1, 103.3, 109.7, 109.8, 119.6, 133.9, 140.1, 149.5, 157.4, 159.4. Масс, m/z (%): 263 ([M+], (26)), 235 ([M-CO] (18)), 220 ([M-CO-CH₃] (87)), 208 ([M-CO-CH₃-C] (7)), 180 ([M-CO-CH₃-C-CO] (100)). Найдено, % С 65.29; Н 6.07; N 5.19. C₁₄H₁₄FN₃O₃. Вычислено, % С 63.87; Н 5.36; N 5.32.

Общая методика синтеза 9-R-5,5,7-триметил-2H-[1,4]оксаино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3(5H)-дионов 12a-с.

Окисление замещенных пирролохинолиндионов **11a-с** в описанных выше условиях привело к образованию красновато-коричневой неразделимой смеси нескольких продуктов.

РЕЗУЛЬТАТЫ И ОБСУЖДЕНИЕ

В данной работе нами изучалось окисление пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-дионов **9a-с** в надсерной кислоте, генерируемой *in situ* в сильноокислой среде. Для осуществления взаимодействия сначала приготавливалась окислительная смесь из пероксодисульфата натрия и концентрированной серной кислоты. Затем в эту смесь небольшими порциями при температуре 0 – +5°C добавлялся соответствующий пирролохинолиндион **9a-с** и выдерживался. Для установления оптимального времени взаимодействия реагентов нами была проведена серия опытов, в которых выдержка пирролохинолиндионов **9a-с** в окислительной смеси варьировалась от 5 минут до 2 часов. Выявлено, что целесообразно проводить реакцию в течение 15 минут, при выдерживании в окислителе меньше данного времени выход реакции уменьшается, а больше – реакционная смесь начинает осмоляться. Продукты реакции выделялись выливанием реакционной смеси на лед, они были получены с достаточно большими выходами 63–79%. С помощью совокупности данных ЯМР ¹H и ¹³C-спектроскопии и масс-спектрометрии продуктам приписана структура 9-R-5,5,7-триметил-6,7-дигидро-2H-[1,4]оксаино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3(5H)-дионов **10a-с**.

Маршрут реакции окисления пирролохинолиндионов **9a-c** надсерной кислотой, вероятно, содержит две стадии (рис.4). Сначала пероксидом, так же, как и *m*-хлорнадбензойной кислотой, атакуется атом углерода C² с образованием промежуточной формы **9'a-c**. Затем происходит трансформация структуры по типу перегруппировки Байера-Виллигера [18] с отщеплением молекулы серной кислоты, и образуется конечный 1,4-оксазинохинолиндион **10a-c**.

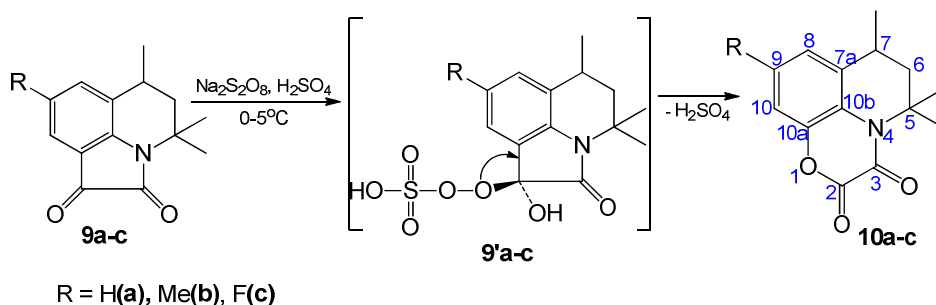


Рис. 4. Окислительная трансформация пирролохинолиндионов **9a-c** в присутствии надсернокислого натрия в серной кислоте

Строение полученных соединений **10a-c** однозначно доказано методами ЯМР ¹H- и ¹³C-спектроскопии и масс-спектрометрией. В спектрах ЯМР ¹H 1,4-оксазинохинолиндионов **10a-c** присутствуют сигналы трех протонов метильной группы у атома C⁷ пиридинового фрагмента в виде дублета с химическим сдвигом в области 1.41–1.42 м.д., сигнал шести протонов *гем*-метильных групп в виде синглета, находящегося в диапазоне 1.67–1.79 м.д., сигнал двух протонов метиленовой группы в виде дублета в области 1.87–1.93 м.д., сигнал метинового протона в виде мультиплета в диапазоне химического сдвига 2.94–3.04 м.д. и сигналы ароматических протонов в виде мультиплета в области 6.86–7.26 м.д. При этом для незамещенного 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3-диона **10a** наблюдается сигнал ароматического протона у атома углерода в девятом положении в виде триплета с химическим сдвигом, равным 7.14 м.д., отсутствующий в спектрах соединений **10b,c**, но в спектре соединения **10b** есть сигнал трех протонов метильной группы у атома C⁹ ароматического фрагмента в виде синглета в области 2.35 м.д.

Наличие характерного сигнала при 149–154 м.д. в спектрах ЯМР ¹³C и отсутствие пиков в области 158–160 м.д., характерных для структуры 1,3-оксазинохинолинов [13], указывает на то, что атом углерода ароматического цикла C^{10a} связан с атомом кислорода [10, 15], а не с карбонильным атомом углерода [8, 18].

Дополнительно структуры соединений **10a-c** доказываются методом масс-спектрометрии при электронной ионизации анализируемых проб. В масс-спектрах полученных производных 1,4-оксазин-2,3-хинолиндионов наблюдаются пики молекулярных ионов-радикалов, соответствующие их структурам, с

интенсивностью в пределах 26–64 % (наибольшая интенсивность характерна для молекулярного иона незамещенного соединения **10a** $I_{\text{омн}}=64\%$, а наименьшая – для фтор-замещенного соединения **10c** $I_{\text{омн}}=26\%$). Фрагментация молекулярных ион-радикалов начинается с элиминирования молекулы CO, что показывает большую устойчивость гидрохинолинового фрагмента по сравнению с 1,4-оксазиновым циклом. После чего происходит отщепление CH_3 -радикала и формирование основного катиона, с максимальной интенсивностью ($I=100\%$). Далее дефрагментация протекает по ранее описанному нами [19] пути распада 1,4-оксазинохинолинов.

При распространении данной реакции на 8-R-4,4,6-триметил-4H-пирроло[3,2,1-ij]хинолин-1,2-дионы **11a-c**, содержащие кратную связь в дигидропиридиновом фрагменте обнаружено, что их окисление при температуре 0 – +5°C по данным ТСХ приводит к образованию неразделимой смеси нескольких продуктов (рис. 5). Это связано с возможным эпоксицированием кратной связи дигидрохинолинового фрагмента, либо с полимеризацией [20–22]. Варьирование температуры (-15 – 0°C) и времени реакции (1–30 мин.) не привело к получению ожидаемых 9-R-5,5,7-триметил-2H-[1,4]оксазино[2,3,4-ij]хинолин-2,3(5H)-дионов **12a-c**. При более низких температурах или при уменьшении времени взаимодействия реакция не происходит полной конверсии исходных соединений **11a-c**, а при увеличении времени реакции и температуры приводит к осмолению реакционной массы.

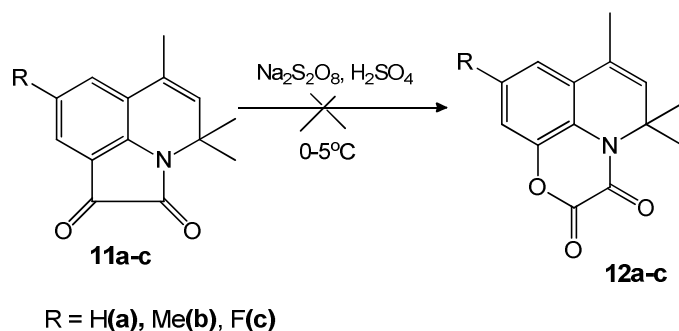


Рис. 5. Окисление надсернистым натрием в серной кислоте пирролохинолиндионов **11a-c**, содержащих кратную связь в пиридиновом цикле

Оценка биологической активности 1,4-оксазино[2,3,4-ij]хинолин-2,3-дионов **10a-c** *in silico* проводилась с использованием веб-ресурса PASS Online (<http://www.way2drug.com/passonline>), с помощью которого были получены узкие прогнозируемые спектры биологической активности с низкой вероятностью. Все исследуемые соединения могут выступать в качестве субстрата CYP2H. Суперсемейство цитохрома P450 (CYP) защищает организмы от эндогенных и вредных соединений окружающей среды и имеет решающее значение для выживания организмов. Однако вероятность проявления (P_a) этой активности составляет 50–60 %, но при этом вероятность не проявления активности (P_i) очень

низкая ($P_a \gg P_i$). Следовательно, если у 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3-дионов **10a-c** обнаружится биологическая активность, то это будет свидетельствовать об оригинальности их структуры по сравнению со структурами известных лекарственных препаратов [23]. Следует также отметить, что прогнозируемая токсичность этих соединений не превышает 50 %.

Для соединения **10a** проведено исследование антикоагулянтной активности на панели факторов свертывания крови в Центре коллективного пользования ЦТПФХФ РАН «Современные методы экспериментальной биофизики» к.б.н. Подоплеловой Н. А. (<http://www.ctppcr.ru/ru/pages/%D0%A6%D0%9A%D0%9F>). Осуществлен первичный скрининг *in vitro* с целью определения относительной ингибирующей активности в отношении тромбина и факторов свертывания Ха и XIa. Как оказалось, соединение не проявляет ингибирующей активности в отношении тромбина и фактора Ха, однако умеренно ингибирует фактор XIa (отношение активности в присутствии ингибитора к активности без ингибитора составляет $0,860 \pm 0,024$ SE).

Таким образом, исследование соединений **10a-c** *in silico* указывает на новизну структуры молекулы по отношению к существующим лекарствам, а проведенный анализ *in vitro* свидетельствуют о том, что синтезированная матрица – 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3-дион – является перспективной для создания селективного ингибитора фактора XIa за счет оптимизации ее структуры путем замены функциональных групп.

ЗАКЛЮЧЕНИЕ

В ходе проведенных исследований получены новые соединения в ряду 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3-дионов методом окислительной рециклизации пирролдионового фрагмента пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-дионов при действии надсерной кислоты, приготовленной *in situ* из пероксодисульфата натрия и концентрированной серной кислоты. Было установлено, что для селективного протекания этого процесса, наиболее оптимально проводить реакцию в течение 15 минут. Проведенный первичный скрининг *in silico* показал, что исследуемые соединения могут выступать в качестве субстратов СУР2Н с умеренной вероятностью. Анализ антикоагулянтной активности *in vitro* показал приемлемую активность 5,5,7-триметил-6,7-дигидро-5H-[1,4]оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3-диона **10a** в отношении фактора свертывания крови XIa.

Список литературы

1. Карцев В. Г. Хинолины: химия и биологическая активность / В. Г. Карцев. – М.: ICSPF Press, 2007. – 744 с.
2. Sridharan V. Advances in the Chemistry of Tetrahydroquinolines / V. Sridharan, A. Padmakar, P. A. Suryavanshi, J. C. Menendez // Chemical Reviews. – 2011. – Vol. 111, No. 9. – P. 7157–7259.
3. Appelbaum P. C. The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives / P. C. Appelbaum, P. A. Hunter // International Journal of Antimicrobial Agents. – 2000. – Vol. 16. – P. 5–15.
4. Guruswamy B. Design, synthesis and antimicrobial evaluation of novel tricyclic benzoxazine fluoroquinolones under conventional and microwave methods / B. Guruswamy, R. Arul,

- M. V. S. R. K. Chaitanya, S. S. Praveen Kumar Darsi // Journal of Heterocyclic Chemistry. – 2014. – Vol. 52. – P. 532–538.
5. Jeyanthi M. A microwave assisted synthesis of few 7-mercaptobenzimidazolyl fluoroquinolones / M. Jeyanthi, B. R. Venkatraman // Der Pharma Chemica. – 2014. – Vol. 6, No 1. – P. 440–442.
 6. Morrissey I. Mechanism of differential activities of ofloxacin enantiomers / I. Morrissey, K. Hoshino, K. Sato, A. Yoshida, I. Hayakawa, M. G. Bures, L. L. Shen // Antimicrob Agents Chemother. – 1996. – Vol. 40, No 8. – P. 1775–1784.
 7. Baraldi P. G. 7-Oxo-[1,4]oxazino[2,3,4-*ij*]quinoline-6-carboxamides as Selective CB2 Cannabinoid Receptor Ligands: Structural Investigations around a Novel Class of Full Agonists / P. G. Baraldi, G. Saponaro, A. R. Moorman, R. Romagnoli, D. Preti, S. Baraldi, E. Ruggiero, K. Varani, M. Targa, F. Vincenzi, P. A. Borea, M. A. Tabrizi // Journal of Medicinal Chemistry. – 2012. – Vol. 55, No. 14. – P. 6608–6623.
 8. Богданов А. В. Хемоселективность окисления 1-алкенилизатинов *m*-хлорпербензойной кислотой. Синтез новых производных изатового ангидрида / А. В. Богданов, Т. И. Садыков, Л. И. Мусин, А. Р. Хаматгалимов, Д. Б. Криволапов, А. Б. Добрынин, В. Ф. Миронов // Журнал общей химии. – 2015. – Т. 85, № 9. – С. 2030–2036.
 9. Kurkin A. V. Synthesis of *N*-alkylanthranilamides with a chiral substituent at the nitrogen atom / A. V. Kurkin, A. A. Bernovskaya, M. A. Yurovskaya // Tetrahedron: Asymmetry. – 2010. – Vol. 21. – P. 2100–2107.
 10. Coppola G. M. The Chemistry of 2*H*-3,1-Benzoxazine-2,4(1*H*)-dione (Isatoic Anhydride). A Midl Process For The Preparation of 10-Alkyl-9-acridanones And It's Application To The Syntesis of Acridone Alkaloids / G. M. Coppola and H. F. Schuster // Journal of Heterocyclic Chemistry. – 1989. – Vol. 26, No. 4. – P. 957–964.
 11. Sahu A. New Synthesis of Blepharin, the Naturally Occurring β -D-Glucoside of 2-Hydroxy-(2*H*,4*H*)-1,4-benzoxazin-3-one / A. Sahu, A. Chatterjee // Indian Journal of Chemistry – Section B: Organic Chemistry. – 1990. – Vol. 29, No. 42. – P. 603–605.
 12. Медведева С. М. Получение индивидуальных производных в ряду 1,3-оксазино[5,4,3-*ij*]хинолинов и 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолинов методом колоночной хроматографии и их масс-спектрометрическое исследование / С. М. Медведева, А. В. Мовчан, К. А. Бондаренко, К. Д. Шихалиева, Х. С. Шихалиев // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2023. – Т. 23, № 4. – С. 705–715.
 13. Medvedeva S. M. Synthesis of substituted 1,3-oxazino[5,4,3-*ij*]quinolin-1,3-diones by the oxidation of various pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-1,2-diones with *m*-chloroperbenzoic acid / S. M. Medvedeva, A. V. Movchan, O. E. Sidorenko, A. S. Shestakov, I. V. Ledenyova, I. V. Zavarzin, K. S. Shikhaliev // Arkivoc. – 2022. – p. II. – P. 215–226.
 14. Медведева С. М. Синтез новых потенциально физиологически активных замещенных 1,4-оксазино[2,3,4-*ij*]хинолин-2,3-дионов / С. М. Медведева, Р. М. Курбатов, Х. С. Шихалиев // «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Создание новых физиологически активных веществ», материалы 6 Международной научно-методической конференции «Фармобразование-2016». – 21-23 апреля 2016 г. – Воронеж. – 2016. – С. 398–401.
 15. Медведева С. М. Эффективные пути синтеза пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-диона и продуктов его окислительных трансформаций / С. М. Медведева, Х. С. Шихалиев // Бутлеровские сообщения. – 2015. – Т. 42, № 4. – С. 86–90.
 16. Лещева Е. В. Синтез 4,4,6-триметил-8-*R*-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-дионов / Е. В. Лещева, С. М. Медведева, Х. С. Шихалиев // Журнал органічної та фармацевтичної хімії. – 2014. – Т. 12. – С. 15–20.
 17. Picozzi M. Effects of protons on the thrombin-fibrinogen interaction / M. Picozzi, R. Landolfi, R. De Cristofaro // European Journal of Biochemistry. – 1994. – V. 219. – P. 1013–1021.
 18. Reissenweber G. Oxidation of isatins to isatoic anhydrides and 2,3-dioxo-1,4-benzoxazines / G. Reissenweber, D. Mangold // Angewandte Chemie International Edition. – 1980. – Vol. 19, № 3. – P. 222–223.
 19. Медведева С. М. Получение и масс-спектрометрический анализ 5,6-дигидро-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-диона и 1,1'-(1,2-диоксоэтан-1,2-диил)бис-1,2,3,4-тетрагидрохинолина /

- С. М. Медведева, Х. С. Шихалиев, Д. В. Крыльский, Л. А. Синяева // Сорбционные и хроматографические процессы. – 2014. – Т. 14, № 6. – С. 970–976.
20. Kratzel M. Synthesis and stereochemistry of 1-acyl-2-alkyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3,4-epoxides / M. Kratzel, R. Hiessböck, H. Völlenkle // Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly. – 1994. – V. 125, No 8-9. – P. 963–969.
21. Brown J. P. Reactions of 2,2-Dialkyl-1,2-dihydroquinolines. Part V. The Dimer of 1,2-Dihydro-2,2,4-trimethylquinoline / J. P. Brown, K. Tidd // Journal of the Chemical Society C: Organic. – 1968. – № 9. – P. 1075–1077.
22. Hiessböck R. Synthesis and in vitro multidrug resistance modulating activity of a series of dihydrobenzopyrans and tetrahydroquinolines / R. Hiessböck, C. Wolf, E. Richter, M. Hitzler, P. Chiba, M. Kratzel, G. Ecker // Journal of Medicinal Chemistry. – 1999. – V. 42, No 11. – P. 1921–1926.
23. Филимонов Д. А. Компьютерное прогнозирование спектров биологической активности химических соединений: возможности и ограничения / Д. А. Филимонов, Д. С. Дружиловский, А. А. Лагунин, Т. А. Глориозова, А. В. Рудик, А. В. Дмитриев, П. В. Погодин, В. В. Поройков // Biomedical Chemistry: Research And Methods. – 2018. – Т.1, №1. – С. e00004.

**SYNTHESIS OF NEW COMPOUNDS IN THE
1,4-OXAZINO[5,4,3-*ij*]QUINOLINE SERIES, INVESTIGATION OF THEIR
BIOLOGICAL ACTIVITY *IN SILICO* AND *IN VITRO***

Medvedeva S. M.¹, Bondarenko K. A.¹, Shikhalieva K. D.², Shikhaliev H. S.¹

¹Voronezh State University, Voronezh, Russian Federation

²Voronezh State Medical University named after N. N. Burdenko, Voronezh, Russian Federation
E-mail: kseeniabondarenko@mail.ru

As a result of the reaction oxidative recyclization of various 4,4,6-trimethyl-5,6-dihydro-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-1,2-diones by persulfuric acid generated *in situ* in a strongly acidic medium, 5,5,7-trimethyl-6,7-dihydro-2*H*-[1,4]oxazino[2,3,4-*ij*]quinoline-2,3(5*H*)-diones were obtained in good yields (63–79 %) and are characterized by spectral methods.

The conditions of this reaction were optimized and it was found that it is advisable to keep the initial compound in a solution of the oxidizing agent for 15 minutes, since less than this time the product yield decreases, and more – the reaction mixture begins to tarring.

The proposed route of the oxidation reaction of pyrroloquinolinediones with peroxymonosulfuric acid contains two stages. Firstly, the attack of the most electrophilic carbon atom C² of the pyrrole fragment occurs with persulfuric acid and, secondly, the structure is transformed according to the type of Bayer-Williger rearrangement with the elimination of the sulfuric acid molecule and the formation of 1,4-oxazinoquinoline. At the same time, the presence and nature of the substituent in the aromatic fragment does not significantly affect the course of the reaction and the yield of products.

For less hydrogenated analogues – 4,4,6-trimethyl-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-1,2-diones – under these conditions, side processes occur leading to tarring of the reaction mass, which is associated with possible epoxidation of the multiple bond of the dihydroquinoline fragment, or polymerization.

The *in silico* prediction of biological activity using the PASS Online web resource indicated the possibility of the synthesized 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinoline-2,3-diones matrix acting as a CYP2H substrate (the probability of this activity is 50–60 %, which is many times more likely than its non-manifestation) with low predicted toxicity. Such results are the basis for asserting the novelty of the structures of the obtained compounds in relation to existing drugs.

In vitro analysis of the obtained products showed the absence of inhibitory activity against thrombin and blood clotting factor Xa, however, the 4,4,6-trimethyl-5,6-dihydro-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-1,2-dione, which does not contain a substituent in the aromatic part, moderately inhibits factor XIa (the ratio of activity in the presence of an inhibitor to activity without an inhibitor is 0.860 ± 0.024 SE).

Keywords: tricyclic quinolines, oxidative cyclization, pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-1,2-dione, 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinoline-2,3(5*H*)-dione, anticoagulant.

References

1. Kartsev V. G., *Quinolines: chemistry and biological activity*, 744 p., (ICSPF Press, Moscow, 2007).
2. Sridharan V., Suryavanshi P.A. and Menendez J.C., Advances in the Chemistry of Tetrahydroquinolines, *Chemical Reviews*, **111**(9), 7157 (2011).
3. Appelbaum P. C. and Hunter P. A., The fluoroquinolone antibacterials: past, present and future perspectives, *International Journal of Antimicrobial Agents*, **16**, 5 (2000).
4. Guruswamy B., Arul R., Chaitanya M. V. S. R. K. and Praveen Kumar Darsi S. S., Design, synthesis and antimicrobial evaluation of novel tricyclic benzoxazine fluoroquinolones under conventional and microwave methods, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **52**, 532 (2014).
5. Jeyanthi M. and Venkatraman B. R., A microwave assisted synthesis of few 7-mercaptobenzimidazolyl fluoroquinolone, *Der Pharma Chemica*, **6**(1), 440 (2014).
6. Morrissey I., Hoshino K., Sato K., Yoshida A., Hayakawa I., Bures M. G. and Shen L. L., Mechanism of differential activities of ofloxacin enantiomers, *Antimicrob Agents Chemother*, **40**(8), 1775 (1996).
7. Baraldi P. G., Saponaro G., Moorman A. R., Romagnoli R., Preti D., Baraldi S., Ruggiero E., Varani K., Targa M., Vincenzi F., Borea P. A. and Tabrizi M. A., 7-Oxo-[1,4]oxazino[2,3,4-*ij*]quinoline-6-carboxamides as Selective CB2 Cannabinoid Receptor Ligands: Structural Investigations around a Novel Class of Full Agonists, *Journal of Medicinal Chemistry*, **55**(14), 6608 (2012).
8. Bogdanov A. V., Sadykov T., Musin L. and Khamatgalimov A., Chemoselective oxidation of 1-alkenylisatins with *m*-chloroperbenzoic acid. Synthesis of new derivatives of isatoic anhydride, *Russian Journal of General Chemistry*, **85**(9), 2030 (2015).
9. Kurkin A. V., Bernovskaya A. A. and Yurovskaya M. A., Synthesis of N-alkylanthranilamides with a chiral substituent at the nitrogen atom, *Tetrahedron: Asymmetry*, **21**, 2100 (2010).
10. Coppola G. M. and Schuster H. F., The Chemistry of 2*H*-3,1-Benzoxazine-2,4(1*H*)-dione (Isatoic Anhydride). A Midl Process For The Preparation of 10-Alkyl-9-acridanones And It's Application To The Syntesis of Acridone Alkaloids, *Journal of Heterocyclic Chemistry*, **26**(4), 957 (1989).
11. Sahu A. and Chatterjee A., New Synthesis of Blepharin, the Naturally Occurring β -D-Glucoside of 2-Hydroxy-(2*H*,4*H*)-1,4-benzoxazin-3-one, *Indian Journal of Chemistry – Section B: Organic Chemistry*, **29**(42), 603 (1990).
12. Medvedeva S. M., Movchan A. V., Bondarenko K. A., Shikhalieva K. D. and Shikhaliev K. S., Preparation of individual derivatives in 1,3-oxazino[5,4,3-*ij*]quinolines and 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinolines series by column chromatography and their mass spectrometric study, *Sorption and Chromatography Processes*, **23**(4), 705 (2023).
13. Medvedeva S. M., Movchan A. V., Sidorenko O. E., Shestakov A. S., Ledenyova I. V., Zavarzin I. V. and Shikhaliev K. S., Synthesis of substituted 1,3-oxazino[5,4,3-*ij*]quinolin-1,3-diones by the oxidation of various pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-1,2-diones with *m*-chloroperbenzoic acid, *Arkivoc*, **II**, 215 (2022).

14. Medvedeva S. M., Synthesis of new potentially physiologically active substituted 1,4-oxazino[2,3,4-*ij*]quinoline-2,3-diones, "Ways and forms of improving pharmaceutical education, Creation of new physiologically active substances", materials of the 6th International Scientific and methodological Conference "Pharmaceutical Education-2016" (Voronezh, 2016), p. 398.
15. Medvedeva S. M. and Shikhaliev K. S., Effective ways the synthesis of pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-1,2-dione and the products of its oxidative transformations, *Butlerov Communications*, **42(4)**, 86 (2015).
16. Leshcheva E. V., Medvedeva S. M. and Shikhaliev H. S., Synthesis of 4,4,6-trimethyl-8-*R*-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-1,2-diones, *Journal of Organic and Pharmaceutical Chemistry*, **12**, 15 (2014). (*in Ukr.*)
17. Picozzi M., Landolfi R. and De Cristofaro R., Effects of protons on the thrombin-fibrinogen interaction, *European Journal of Biochemistry*, **219**, 1013 (1994).
18. Reissenweber G. and Mangold D., Oxidation of isatins to isatoic anhydrides and 2,3-dioxo-1,4-benzoxazines, *Angewandte Chemie International Edition*, **19(3)**, 222 (1980).
19. Medvedeva S. M., Shikhaliev H. S., Krylsky D. V. and Sinyaeva L. A., Preparation and mass spectrometric analysis of 5,6-dihydro-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-1,2-dione and 1,1'-(1,2-dioxoethane-1,2-diyl)bis-1,2,3,4-tetrahydroquinoline, *Sorption and Chromatography Processes*, **14(6)**, 970 (2014). (*in Russ.*)
20. Kratzel M., Hiessböck R. and Völlenkle H., Synthesis and stereochemistry of 1-acyl-2-alkyl-1,2,3,4-tetrahydroquinoline-3,4-epoxides, *Monatshefte für Chemie – Chemical Monthly*, **125(8-9)**, 963 (1994).
21. Brown J. P. and Tidd K., Reactions of 2,2-Dialkyl-1,2-dihydroquinolines. Part V. The Dimer of 1,2-Dihydro-2,2,4-trimethylquinoline, *Journal of the Chemical Society C: Organic*, **9**, 1075 (1968).
22. Hiessböck R., Wolf C., Richter E., Hitzler M., Chiba P., Kratzel M. and Ecker G., Synthesis and *in vitro* multidrug resistance modulating activity of a series of dihydrobenzopyrans and tetrahydroquinolines, *Journal of Medicinal Chemistry*, **42(11)**, 1921 (1999).
23. Filimonov D. A., Poroikov V. V., Glorizova T. A., Lagunin A. A., Druzhilovskiy D. S., Rudik A. V., Stolbov L. A., Dmitriev A. V., Tarasova O. A., Ivanov S. M. and Pogodin P. V., Computer-aided prediction of biological activity spectra for organic compounds: the possibilities and limitations, *Biomedical Chemistry: Research And Methods*, **1(1)**, e00004 (2018).