



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas



Lietuvos sveikatos mokslų universitetas

Farmacijos fakultetas

Įvairiai pakeistų bisindolo darinių sintezė ir tyrimas

Baigiamasis magistro projektas

Miglė Valikonytė

Projekto autorė

doc. dr. Joana Solovjova

Vadovė

Kaunas, 2021



Kauno technologijos universitetas
Cheminės technologijos fakultetas



Lietuvos sveikatos mokslų universitetas
Farmacijos fakultetas

Įvairiai pakeistų bisindolo darinių sintezė ir tyrimas

Baigiamasis magistro projektas

Medicininė chemija (6281CX001)

Miglė Valikonytė

Projekto autorė

doc. dr. Joana Solovjova

Vadovė

**doc. dr. Birutė Sapijanskaitė-
Banevič**

Recenzentė

Kaunas, 2021



Kauno technologijos universitetas

Cheminės technologijos fakultetas

Lietuvos sveikatos mokslų fakultetas

Farmacijos fakultetas

Miglė Valikonytė

Įvairiai pakeistų bisindolo darinių sintezė ir tyrimas

Akademinio sąžiningumo deklaracija

Patvirtinu, kad:

1. baigiamąjį projektą parengiau savarankiškai ir sąžiningai, nepažeisdama kitų asmenų autoriaus ar kitų teisių, laikydamasi Lietuvos Respublikos autorių teisių ir gretutinių teisių įstatymo nuostatų, Kauno technologijos universiteto ir Lietuvos sveikatos mokslų universiteto teisės aktų, reglamentuojančių akademinę etiką, intelektinės nuosavybės teises, jų valdymą ir perdavimą;
2. baigiamajame projekte visi pateikti duomenys ir tyrimų rezultatai yra teisingi ir gauti teisėtai, nei viena šio projekto dalis nėra plagijuota nuo jokių spausdintinių ar elektroninių šaltinių, visos baigiamojo projekto tekste pateiktos citatos ir nuorodos yra nurodytos literatūros sąrašė;
3. įstatymų nenumatytų piniginių sumų už baigiamąjį projektą ar jo dalis niekam nesu mokėjusi;
4. suprantu, kad išaiškėjus nesąžiningumo ar kitų asmenų teisių pažeidimo faktui, man bus taikomos akademinės nuobaudos pagal Kauno technologijos universitete ir(ar) Lietuvos sveikatos mokslų universitete galiojančią tvarką ir mano studijų sutartis bus nutraukta, o baigiamasis projektas gali būti pateiktas Akademinės etikos ir procedūrų kontrolieriaus tarnybai dėl galimo akademinės etikos pažeidimo.

Miglė Valikonytė

Patvirtinta elektroniniu būdu

Valikonytė, Miglė. Įvairiai pakeistų bisindolo darinių sintezė ir tyrimas. Baigiamasis magistro projektas / vadovė doc. dr. Joana Solovjova; Kauno technologijos universitetas, Cheminės technologijos fakultetas; Lietuvos sveikatos mokslų fakultetas, Farmacijos fakultetas.

Studijų kryptis ir sritis (studijų krypčių grupė): chemija, fiziniai mokslai.

Reikšminiai žodžiai: indolo bioizosterai 7-azaindolas, bisindolas.

Kaunas, 2021. 52 p.

Santrauka

Įvairūs indolo izosterai, nėra dažnai sutinkami gyvojoje gamtoje, tačiau yra sintetinami ir taip pat kaip bisindolai pasižymi labai įvairiu biologiniu aktyvumu, kuris yra pritaikomas medicininėje chemijoje. Šie junginiai pasižymi antivirusinėmis, priešuždegiminėmis, priešvėžinėmis, prieškirmėlinėmis, antioksidacinėmis, įvairių kinazių slopinamosiomis ir kitomis savybėmis. Žinant bisindolų biologinių savybių įvairovę, stebėtina, kad yra labai nedaug susintetintų bisindolų izosterų.

Šio darbas tikslas buvo atlikti išsamią literatūros analizę apie biologiškai aktyvius indolo izosterų darinius susintetinti įvairiai pakeistus bisindolų izosterų junginius, kurie tikėtina, kad pasižymės biologiniu aktyvumu. Pirmiausiai buvo gauti tarpiniai bis-7-azaindolų junginiai – prie įvairių azaindolų buvo prijungti aromatiniai aldehidai per C-3 anglies atomą. Toliau sekančios reakcijos metu prie gautų junginių buvo prijungiama antra azaindolo molekulė. Taip buvo gauti įvairiai pakeisti simetriniai ir nesimetriniai bis-7-azaindolų junginiai. Tarpinių junginių ir galutinių produktų struktūros buvo patvirtintos atliekant išsamią BMR, IR, MS ir HRMS spektrų analizę.

Valikonytė, Miglė. Synthesis and Investigation of Variously Substituted Bisindole Derivatives. Master's Final Degree Project / supervisor Assoc. Prof. Dr. Joana Solovjova; Faculty of Chemical Technology, Kaunas University of Technology; Faculty of Pharmacy, Lithuanian Health Science University.

Study field and area (study field group): Chemistry, Physical Sciences.

Keywords: indole bioisosteres, 7-azaindole, bisindole.

Kaunas, 2021. 52 pages.

Summary

Various indole isosteres, although not commonly found in the wild, are synthesized and, like bisindoles, have a wide variety of biological activities that are applicable in medicinal chemistry. These compounds have antiviral, anti-inflammatory, anticancer, anthelmintic, antioxidant, various kinase inhibitory and other properties. Given the diversity of biological properties of bisindoles, it is surprising that there are very few synthesized bisindole isosteres.

The aim of this work is to synthesize various substituted bisindole isostere compounds that are likely to have biological activity according to detailed analysis of the literature of biologically active indole isostere derivatives. Intermediates for bis-7-azaindoles were obtained first, with aromatic aldehydes attached to various azaindoles via a C-3 carbon atom. In a subsequent reaction, a second molecule of azaindole was added to the resulting compounds. Variously substituted symmetric and asymmetric bis-7-azaindole compounds were thus obtained. The structures of the intermediates and final products were confirmed by detailed analysis of NMR, IR, MS, and HRMS spectra.

Turinys

Santrumpų sąrašas	7
Įvadas	9
1. Literatūros apžvalga	10
1.1. Indolo izosterų charakteristika	10
1.1.1. 7-Azaindolas.....	10
1.1.2. Benzimidazolas.....	10
1.1.3. Benzotriazolas	11
1.2. Natūralių indolo izosterų biologinis aktyvumas.....	11
1.3. Sintetinių indolo izosterų pritaikymas medicinoje	12
1.3.1. 7-Azaindolo junginiai	12
1.3.2. Benzimidazolo junginiai.....	15
1.3.3. Benzotriazolo junginiai	17
1.4. Bisindolų izosterų sintezė.....	19
1.4.1. Bis-7-azaindolų sintezė	19
1.4.2. Bisbenzimidazolų sintezė	21
1.4.3. Bisbenzotriazolų sintezė.....	23
1.5. Apibendrinimas	24
2. Medžiagos ir tyrimų metodai	26
2.1. Analizės atlikimo metodika.....	26
2.2. Junginių sintezė ir analizė	27
3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas	35
3.1. Indolo izosterų pakeitimas 3-ioje padėtyje.....	35
3.2. Bis-7-azaindolų sintezė	42
3.3. Aromatinio aldehido prijungimas prie bisindolo ir jo izostero	45
3.4. Bis-7-azaindolų biologinio aktyvumo tyrimai.....	47
Išvados	48
Literatūros sąrašas	49
Publikacijų sąrašas	52

Santrumpų sąrašas

ATP – adenozino trifosfatas;

BMR – branduolių magnetinis rezonansas;

BPO – benzoilperoksidas;

CDK – nuo ciklino priklausomos kinazės;

d – dubletas;

DBU – 1,8-diazabiciklo[5.4.0]undec-7-enas;

DCE – dichlorešanas;

dd – dubleto dubletas;

DMF – *N,N*-dimetilformamidas;

DMSO – dimetilsulfoksidas;

DMSO-*d*₆ – deuteriuotas dimetilfulfoksidas;

DPPH- 2,2-difenil-1-pikrilhidrazilas;

EA – etilacetatas;

EC₅₀ – pusė didžiausios efektyvios koncentracijos;

ekviv. – ekvivalentas;

GI₅₀ – pusė didžiausios ląstelių proliferacijos slopinimo koncentracijos;

GSK – glikogeno sintazės kinazė;

HRMS – aukštos raiškos masių spektroskopija;

Hz – hercas;

IC₅₀ – pusė maksimalios slopinančios koncentracijos;

IR – infraraudonoji spektroskopija;

J – protonų sąveikos konstanta;

KO*t*Bu – kalio *tert*-butoksidas;

m – multipletas;

MB – mikrobangų reaktorius;

min – minutė;

MS – masių spektrometrija;

NOD – nukleotidus surišantis oligomerizacijos domeno baltymas;

PSO – Pasaulio sveikatos organizacija;

PTSA – *p*-toluensulfonrūgštis;

Rf – sulaikymo faktorius;

RNR – ribonukleino rūgštis;

s – singletas

STAT3 - signalo keitiklis ir transkripcijos aktyvatorius;

SŪRS – sunkus ūmus respiracinis sindromas;

t – tripletas;

THF – tetrahidrofuranas;

t_{lyd} – lydymosi temperatūra;

val. – valanda.

Įvadas

Indolas ir jo dariniai jau seniai pripažinti kaip naudingi junginiai, turintys įvairų biologinį aktyvumą, kuris yra pritaikomas medicininėje chemijoje. Šiuo metu įvairūs indolo izosterai jau yra naudojami komerciniuose vaistuose, tačiau vis dar yra sintetinami nauji analogai, kurie yra pritaikomi naujų vaistų kūrimui. Šių vaistų pritaikymas labai platus, dėl indolo izosterų darinių savybių įvairovės – jie gali būti naudojami kaip kinazių inhibitoriai, citotoksinė medžiagos, antiangiogenai, prostaglandino DP₂ receptorių antagonistai, melanino bei nikotino agonistai, vaistai nuo Alzheimerio, astmos ir daugelis kitų pritaikymų [1–3]. Žinant tokias plačias indolo darinių panaudojimo galimybes tikslinga sintetinti analogus ir tirti jų aktyvumus. Baigiamojo bakalauro projekto metu jau buvo atlikta įvairiai pakeistų bisindolų sintezė ir savybių tyrimas. Remiantis šia patirtimi būtų tikslinga atlikti analogiškas sintezės reakcijas su kitais indolo izosterais.

Darbo tikslas – atlikti įvairiai pakeistų bisindolmetanų sintezę ir ištirti jų savybes.

Šio darbo įgyvendinimui buvo išskelti uždaviniai:

1. Atlikti literatūros analizę apie biologiškai aktyvius indolo izosterų junginius ir bisindolų sintezės metodus.
2. Atlikti sintezės reakcijas 3-oje indolo ir jo izosterų žiedo padėtyje prijungiant įvairiai pakeistus aromatinius aldehidus bei atlikti šios sintezės sąlygų optimizavimą.
3. Atlikti sintezės reakcijas suformuojant įvairius 3,3'-bisindolmetanus

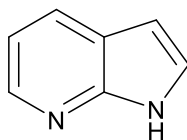
1. Literatūros apžvalga

1.1. Indolo izosterų charakteristika

Indolo subvienetas yra labai dažnai sutinkama struktūra analizuojant biologiškai aktyvius natūralius junginius. Dėl savo savybių nemažai įvairių indolo junginių buvo pritaikyti medicininėje chemijoje ir dabar yra naudojami kaip komercinių vaistų veiklioji medžiaga. Įvairūs indolo izosterų dariniai, nors ir retai sutinkami natūraliuose produktuose, bet gaunami sintetiniu būdu, taip pat dažnai pasižymi biologiniu aktyvumu. Indolo izosterai tai junginiai, kurie savo struktūra labai panašūs į indolo žiedą bei dažnai turi panašias elektronines savybes. Šie izosterai yra ypatingi tuo, kad jie gali prisijungti prie daugelio receptorių, turinčių didelį giminingumą minėtiems izosterams ir dėl to šie izosterai gali būti pritaikyti įvairiose terapinėse srityse.

1.1.1. 7-Azaindolas

Pirmiausiai 7-azaindolas **1** (1.1 Pav.) – vienas iš indolo izosterų – buvo išgautas iš akmens anglių deguto [4]. Ši struktūra ypatinga tuo, kad yra sudaryta iš dviejų heterociklų, kurių vienas yra π -elektronų deficitinis ciklas, o kitas priešingai – perteklinis. Deficitinio piridino žiedo susijungimas su π -elektronų pertekliniu pirolo žiedu suformuoja azaindolą, kuris išlaiko tam tikras abiejų žiedų chemines savybes, tačiau šiek tiek sumažėja jo reaktyvumas. Nors įvairiai pakeistų azaindolo **1** junginių natūraliai gamtoje sutinkama nedaug, tačiau jie yra sintetinami bei dažnai pritaikomi farmacijoje ir agrochemijoje, o dėmesys medicininei chemijai nuolat didėja. Azaindolas **1** ir jo dariniai yra vieni perspektyviausių junginių kaip indolų bioizosterai dėl savo biologinių savybių ir farmakologinio aktyvumo. Be to azaindolas dar ypatingas tuo, kad jis turi tiek vandenilinio ryšio donoro, tiek ir akceptorius savybes, o tai dar labiau sustiprina farmakologinį susidomėjimą šio tipo junginiais. Dėl šių charakteristikų azaindolai pasižymi labai plačiu biologinio savybių spektru, įskaitant priešuždegimines, priešnavikines, antibakterines, antimaliarines, antimikrobines, priešgrybelines, prieštuberkuliozines ir kitas savybes.

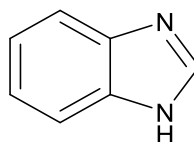


1

1.1 Pav. 7-Azaindolo struktūra

1.1.2. Benzimidazolas

Kitas indolo izosteras – benzimidazolas **2** (1.2 Pav.) – medicininėje chemijoje yra svarbus farmakoforas ir turi klinikinį pritaikymą [5]. Ši struktūra yra biciklinė, sudaryta iš benzeno ir imidazolo žiedų. Benzimidazolas **2** ir jo dariniai, turintys vandenilio atomą, prijungtą prie azoto 1-oje padėtyje, yra linkę tautomerizuotis. Įprastai ši struktūra gaunama atliekant kondensacijos reakciją su o-fenilendiaminu ir skruzdžių rūgštimi [6]. Benzimidazolas **2** farmacijoje geriausiai žinomas dėl jo būdingų antihelminčių, antimikrobinų ir priešgrybelinių savybių. Kadangi įvairių kliniškai reikšmingų bakterijų rūšių atsparumas antimikrobinėms medžiagoms tampa vis svarbesne pasauline problema, aktualu ieškoti naujų junginių ar jau žinomų junginių darinių pasižyminčių tokiu aktyvumu.

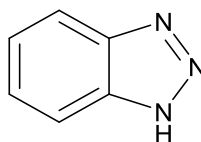


2

1.2 Pav. Benzimidazolo struktūra

1.1.3. Benzotriazolas

Benzotriazolas **3** (1.3 Pav.) yra indolo izosteras savo struktūroje turintis 3 azoto atomus. Benzotriazolas **3** kaip ir kiti izosterai yra biciklinis junginys, kuris cheminiu požiūriu veikia kaip labai silpna bazė, bet rūgštinės savybės yra stipresnės nei benzimidazolo **2** ar 1,2,3-triazolo. Įprastai benzotriazolas **3** yra gaunamas ciklinės kondensacijos metu iš o-fenilendiaminų ir natrio nitrito acto rūgštyje. Įvairūs benzotriazolo dariniai dažnai veikia kaip daugelio biologiškai aktyvių baltymų agonistai [2]. Pavyzdžiui benzotriazolo esteriai veikia kaip sunkiojo ūmaus respiracinio sindromo (SŪRS) 3CL proteazės inaktyvatoriai. Panašiai kaip ir kiti indolo izosterų dariniai, benzotriazolai pasižymi antivirusiniu, antihelmintiniu, antibakteriniu, antimikobakteriniu, antiprotozoiniu ir kitais biologiniais aktyvumais [2].

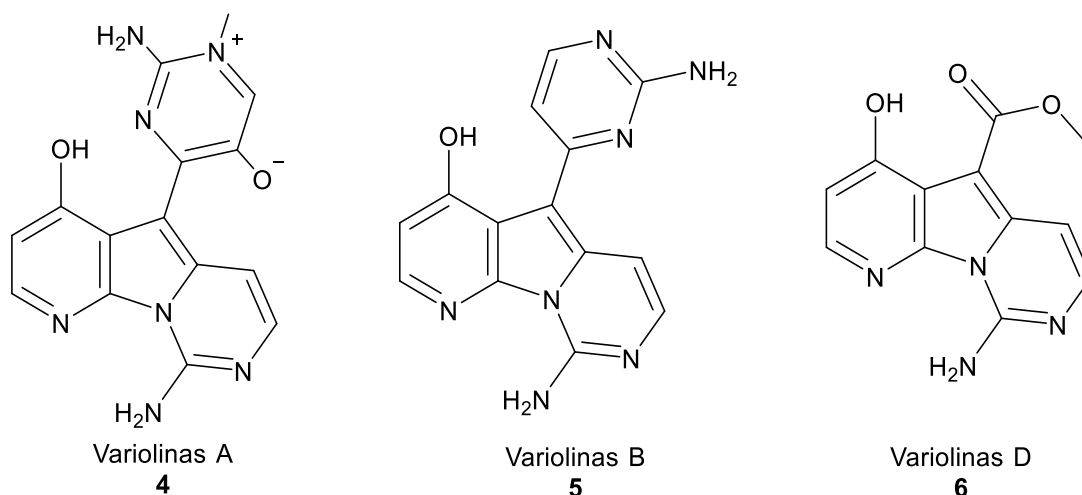


3

1.3 Pav. Benzotriazolo struktūra

1.2. Natūralių indolo izosterų biologinis aktyvumas

Įvairūs indolo izosterų dariniai, skirtingai nuo indolo darinių, nėra būdingi gyvų organizmų komponentai ir dėl to nėra mokslinių publikacijų apie natūralių darinių išgavimą. Nors 7-azaindolo dariniai natūraliai gamtoje yra sutinkami gan retai, jų biologinės savybės kelia didelį susidomėjimą. Pavyzdžiui, keletas naujų farmakologinės reikšmės junginių buvo nustatyti jūrinių organizmų tarpiniuose metabolizmo produktuose. Nauja junginių grupė, pavadinta varioliniais (1.4 Pav.) buvo išskirta iš retai aptinkamos ir sunkiai prieinamos jūrinės antarktinės kempinės *Kirkpatrickia Variolosa* [7]. Ši variolinų klasė turi bendrą trijų žiedų skeletą, į kurį įeina ir azaindolo **1** struktūra. Be to ši žiedų sistema nėra aptinkama jokiuose kituose natūraliai išgaunamuose produktuose iš gyvų organizmų tiek ir antžeminės kilmės, tiek ir jūrinės. Tiriant šio tipo junginių biologinį aktyvumą, buvo nustatyta, kad variolinai pasižymi stipriu citotoksiniu aktyvumu prieš P388 pelių leukemijos ląstelių liniją. Be to, buvo nustatyta, kad skirtingose žmogaus vėžio ląstelių linijose Variolinas B **5** slopina kolonijų susidarymą, sukelia ciklo sutrikimus ir sukelia apoptozę esant junginio koncentracijai nuo 0,1 iki 2 μm. Šis azaindolo darinys neleidžia ląstelei pereiti į S fazę, sustabdydamas ją G1 fazėje praėjus 4-ioms valandoms po gydymo pradžios. Taip pat buvo pastebėtas aktyvumas, prieš I tipo paprastąjį herpesą. Iš 1.4 paveiksle pateiktų natūralių azaindolų alkaloidų didžiausiu aktyvumu pasižymi Variolinas B **5**. 3-Aminopirimidino žiedo oksidacija arba redukcija prie C-5 anglies atomo, kaip kad Variolino A **4** atveju sumažina šio junginio aktyvumą.



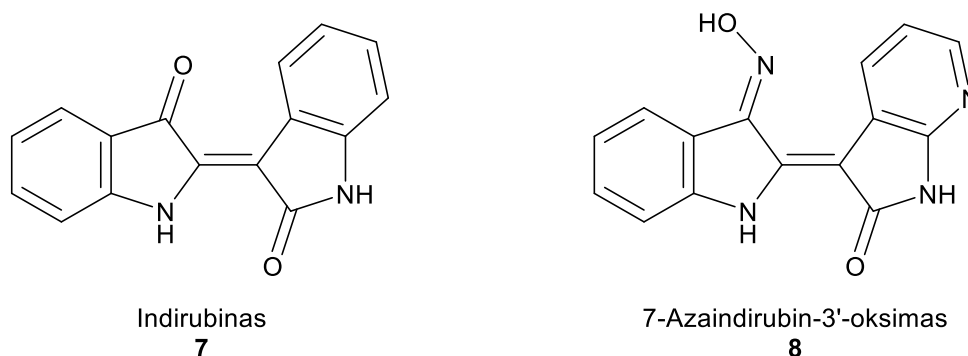
1.4 Pav. 7-Azaindolo alkaloidai išskirti iš jūrinės antarktinės kempinės *Kirkpatrickia Variolosa*.

1.3. Sintetinių indolo izosterų pritaikymas medicinoje

Nors indolo izosterų dariniai nėra paplitę gamtoje, jie yra sintetinami, tiriamos jų savybės, biologinis aktyvumas ir netgi pritaikomi komerciniuose vaistuose. Kaip jau buvo minėta dėl savo struktūros jų biologinis aktyvumas yra labai platus ir įvairus, dėl to įdomu jį plačiau panagrinėti.

1.3.1. 7-Azaindolo junginiai

Kadangi natūralių azaindolo **1** alkaloidų įvairovė nėra didelė, o jų biologinės savybės kelia susidomėjimą, dažnai tenka sintetinti įdomesnių struktūrų azaindolus. Dėl šios priežasties buvo pradėta sintetinti junginius su azaindolais remiantis natūraliais alkaloidais pasižyminčius farmakologiniu aktyvumu. Pavyzdžiui, bisindolo alkaloidas indirubinas **7** (1.5 Pav.) [8] ir jo analogai turi labai įdomų natūralų farmakoforą. Jie geriausiai yra žinomi kaip kinazių inhibitoriai, be to dėl kelių kitų savybių jie gali tapti ikiklinikinių tyrimų kandidatais, kuriant nujus vaistus.



1.5 Pav. Natūralus indirubinas ir sintetinis analogas su azaindolo žiedu

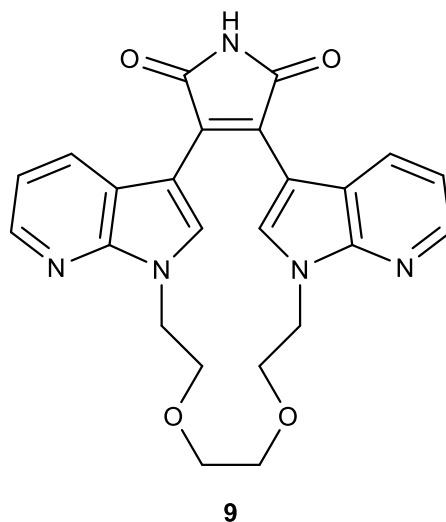
Indirubino **7** ir jo analogų galima rasti indigo dažus gaminančiuose augaluose, kurių yra daugiau nei 200 rūšių. Pats indirubinas **7** jau naudotas tradicinėje kinų medicinoje kaip veiklioji medžiaga įvairioms ligoms, pavyzdžiui, lėtinei mielocitinei leukemijai gydyti. Eksperimentiniai duomenys rodo, kad antiproliferacinis indirubino poveikis atsiranda dėl jų gebėjimo slopinti nuo ciklino priklausomas kinazes (CDK). Moksliniais tyrimais nustatyta, kad kai kurie indirubino analogai gali sustabdyti fosforilavimo procesus ir tolimesnę transkripcijos faktoriaus STAT3 aktyvaciją, kas lemia ląstelės išgyvenimo faktorių sutrikdymą ir ląstelės žūtį.

Remiantis natūralaus indirubino **7** farmakologiniu aktyvumu buvo susintetinta daug šio alkaloido analogų, tarp kurių ir 7-azaindirubin-3'-oksimas **8** (1.5 Pav.) taip pat pasižymėjęs biologinėmis savybėmis t.y. antiproliferacinėmis savybėmis ir kinazių slopinamuoju aktyvumu, kaip ir buvo tikėtasi. Šio ir serijos panašių 7-azaindolo alkaloido junginių aktyvumas buvo ištirtas su kinazėmis CDK1, CDK2, CDK5 ir GSK3. Tyrimais nustatyta, kad pusė didžiausios slopinančiosios koncentracijos prieš kinazes tai yra $IC_{50} > 300\text{nM}$. Iš visų susintetintų indirubino **7** analogų, 7-azaindirubin-3'-oksimas **8** pasižymėjo didžiausiu farmakologiniu aktyvumu. Šis azaindirubinas esant $3\ \mu\text{M}$ koncentracijai 81% nuslopino CDK5 kinazę ir pademonstravo šiek tiek geresnį selektyvumą, nei kiti jo analogai [8]. Pavyzdžiui *N*-1-metilintas 7-azaindirubino analogas neparodė jokio slopinančiojo aktyvumo prieš CDK testuotoje koncentracijoje.

7-Azaindirubinas **8** taip pat parodė didelį antiproliferacinį aktyvumą prieš daugelį vėžinių ląstelių linijų. Tyrimais nustatyta, kad įvairioms vėžinių ląstelių linijoms 50% maksimalaus ląstelių proliferacijos slopinimo koncentracijos, tai yra GI_{50} vertės yra nuo 0,77 iki $2\ \mu\text{M}$. Šiame tyrime buvo ištirtos tokios vėžinių ląstelių linijos kaip krūties T-47D, kiaušidžių IGROV1 bei SK-OV-3, inkstų UO-31, leukemijos RPMI ir kito linijos. Geriausia antiproliferacinį poveikį 7-azaindirubinas **8** parodė prieš gaubtinės žarnos KM12 ląstelių liniją, kai $GI_{50} = 0,77\ \mu\text{M}$.

Atsižvelgiant į 7-azaindirubino **8** biologinių tyrimų rezultatus, šis junginys ir jo analogai galėtų tapti potencialiais kandidatais kaip veikliosios medžiagos kuriant priešvėžinius vaistus.

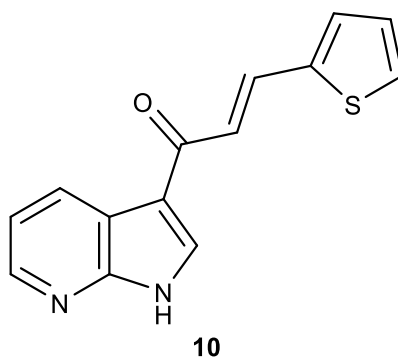
Kitas azaindolo pritaikymo medicinoje pavyzdys būtų junginys **9** (1.6 Pav.) savo struktūroje turintis dvi azaindolo **1** molekules. Moksliniais tyrimais nustatyta, kad šis junginys veikia kaip GSK-3 β fermentų inhibitorius [9]. Glikogeno sintazės kinazė 3 (GSK-3) yra serino bei treonino baltymų kinazė, kuri tarpininkauja fosfato molekulių pridėjimui prie serino ir treonino aminorūgščių liekanų. Baltymas Tau yra žinomas GSK-3 substratas *in vivo* tyrimuose. Minėtojo baltymo hiperfosforilinimas yra viena iš priežasčių sukeliančių ankstyvasias neurodegeneracines būkles ir tai sukelia tokias ligas kaip Alzheimerį [10]. Taip pat manoma, kad baltymo Tau hiperfosforilinimas skatina mikrovamzdelių (ląstelės citoskeleto elementų) išardymą. Dėl to, bisazaindolas **9** galėtų būti potencialus vaistas šioms ligoms dėl savo kinazės slopinamųjų savybių. Šio junginio prisirišimo afinitetas prie GSK-3 β fermentų buvo nustatytas, išmatuotas ir lygus $IC_{50} = 0,620\ \mu\text{M}$ [9].



1.6 Pav. Bisazaindolas veikiantis kaip GSK-3 inhibitorius

Kaip jau buvo minėta indolų izosterų struktūra yra labai unikali – tai yra natūralus farmakoforas, galintis jungtis prie daugelio natūralių struktūrų, receptorių baltymų ir kt. Dėl to įvairūs dariniai veikia kaip inhibitoriai daugeliui kinazių, ne tik jau minėtajam GSK-3. Šis aktyvumas yra labai aktualus dėl to, kad baltymų kinazių šeima yra labai didelė – ją sudaro daugiau nei 500 įvairių baltymų [11], kurie kaip žinoma yra labai evoliuciškai išsilaikę daugelyje eukariotinių rūšių. Šie baltymai, katalizuodami fosfatų perdavimą, reguliuoja įvairius ląstelių įvykius, įskaitant ląstelių išgyvenimą, augimą, diferenciaciją ir migraciją. Nenormalus fosforilinimas, hiperaktyvumas arba per didelis baltymų kinazių išsiskyrimas yra susijęs su įvairiomis žmogaus ligomis, įskaitant vėžį, diabetą, reumatoidinį artritą ir kt. [12]. Naujausi tyrimai praneša, kad maždaug 20-30% viso pasaulio pastangų yra skiriamos vaistų kūrimui, orientuotam į baltymų kinazių šeimą [13]. Tai įrodo įvairių indolo izosterų darinių, kaip inhibitorių, aktualumą šių laikų medicinoje.

Kitas junginys, azaindolo darinys **10** (1.7 Pav.) veikia kaip netgi dviejų – CDK9/ciklino T bei Haspin – baltymų kinazių inhibitorius. Ši unikali junginio savybė – dviejų taikinių turėjimas – paverčia azaindolą **10** perspektyviu kandidatu chemoprevecinių arba chemoterapinių vaistinių medžiagų vystyme. Dažniausiai, medžiagos slopinančios tik vieną kinazę suteikia trumpalaikį veiksmingumą, dėl besivystančio atsparumo vaistinėms medžiagoms. Vienas iš būdų sulėtinti šio atsparumo vystymąsi – daugybinių kinazių inhibitorių, tokių kaip azaindolas **10**, naudojimas. Tokios medžiagos galėtų būti terapinė priemonė žmogaus piktybinių navikų gydymo strategijoje. Azaindolas **10** yra tinkamas pavyzdys, nes moksliniais tyrimais nustatyta, kad jis veikia kaip inhibitorius prieš CDK9/ciklino T baltymų kinazę – $IC_{50} = 2,260 \mu M$, o atliekant tyrimą su Haspin baltymų kinazę nustatytas net kelis kartus didesnis slopinamasis poveikis – $IC_{50} = 0,470 \mu M$ (kinazių aktyvumas buvo nustatytas naudojant $10 \mu M$ ATP) [13].

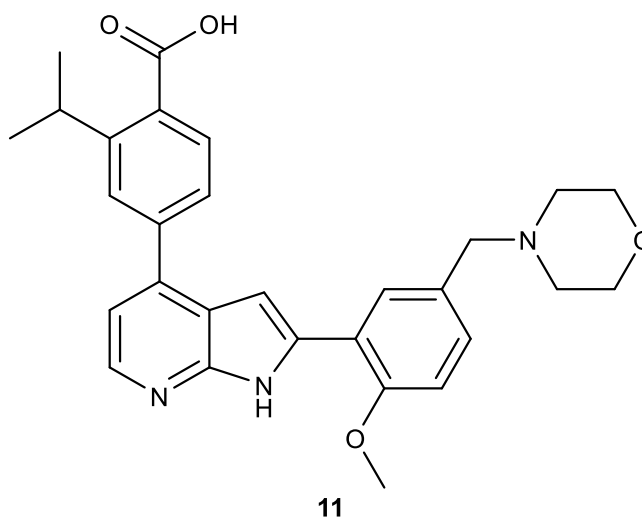


1.7 Pav. Azaindolo darinys veikiantis kaip CDK9 ir Haspin baltymų kinazių inhibitoriai

Kai kurie azaindolo dariniai pasižymi netgi antimaliarinėmis savybėmis. Toks biologinis aktyvumas yra labai aktualus, dėl to, kad maliarija yra gyvybei grėsminga liga. Nors šiuo metu yra komercinių vaistų nuo maliarijos, reikia nepamiršti, kad laikui bėgant didėja maliarijos sukėlėjų atsparumas vaistams. Dėl to reikia ieškoti naujų kandidatų kovoje su šia liga. Tokiu kandidatu gali tapti azaindolas **11** (1.8 Pav.) veikiantis kaip inhibitorius prieš baltymų kinazę *PfCLK3*. Ši kinazė atlieka svarbų vaidmenį maliarinių parazitų RNR splaisingo (mRNR pirmtako brendimo) reguliavime ir yra būtinas *Plasmodium falciparum* išlikimui [14]. Kaip žinoma *Plasmodium falciparum* yra labiausiai virulentiška žmogaus maliarijos sukėlėjo rūšis.

Tiriant junginio **11** antimaliarines savybes buvo nustatinėjamas kinazės aktyvumo bei parazitų augimo slopinimo efektas. Moksliniai tyrimai parodė, kad inhibitoriaus koncentracija, kai baltymų

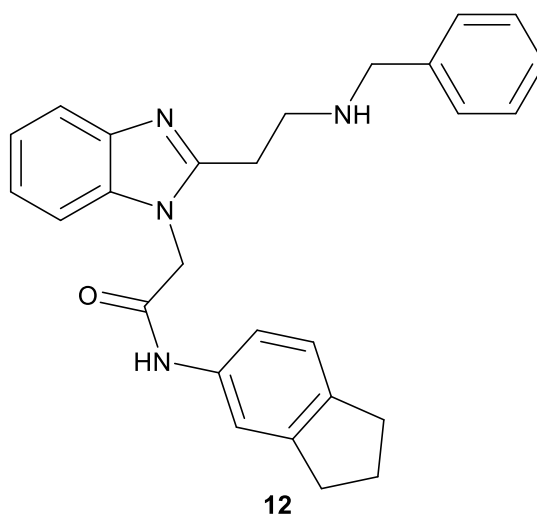
kinazės *Pf*CLK3 atsakas sumažėja per pusę yra lygus $IC_{50} = 9 \text{ nM}$ [15]. Toliau buvo nustatinėjama junginio koncentracija, kuri suteikia pusę maksimalaus atsako tiriant *Plasmodium falciparum* augimo slopinimą. Gauta reikšmė $EC_{50} = 1339 \text{ nM}$. Iš gautų rezultatų galima teigti, kad azaindolo darinys stipriai slopina parazitų kinazių aktyvumą ir silpnai stabdo jų augimą. Manoma, kad junginyje **11** azaindolo **1** žiedas atlieka svarbų vaidmenį kaip farmakoforas, nes su baltymų kinazėmis sudaro du vandenilinius ryšius per du azoto atomus. Dėl to šis junginys gali būti potencialus kandidatas į vaistus nuo maliarijos.



1.8 Pav. Azaindolas pasižymintis antimaliarinėmis savybėmis

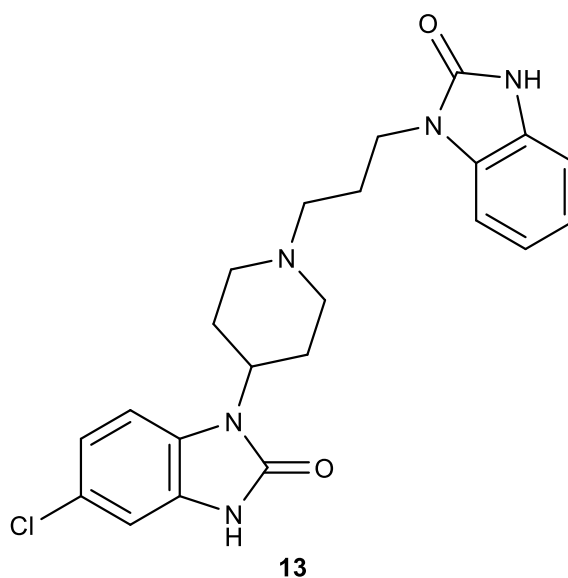
1.3.2. Benzimidazolo junginiai

Kaip ir kiti indolo izosterų dariniai, įvairūs benzimidazolai **2** pasižymi plačiu biologiniu aktyvumu. Be to kai kuriais atvejais jie turi pranašumą prieš kitus junginius su panašiomis savybėmis. Pavyzdžiui benzimidazolų diamidai yra vieninteliai selektyvūs NOD2 antagonistai [16]. Viduląsteliniai nukleotidus surišantys oligomerizacijos domeno (NOD) receptoriai yra svarbūs generuojant įgimtus imuninius atsakus. Per didelis NOD tipo receptorių sužadinimas yra pagrindinė daugelio ligų priežastis, įskaitant uždegiminius sutrikimus, autoimunines ligas ir tam tikras vėžio rūšis. Dėl to reguliuojamas NOD aktyvumo slopinimas yra naujai atrastas būdas gydyti šias ligas, nepažeidžiant kitų imuninių mechanizmų. Tam yra būtinas benzimidazolų selektyvumas šiems receptoriams. Vienas iš tokių benzimidazolų yra **12** junginys (1.9 Pav.). Selektyvus antagonistinis benzimidazolo **12** poveikis buvo nustatytas atliekant testą su HEK-Blue NOD2 ląstelėmis. Eksperimento metu ląstelės iš pradžių buvo inkubuojamos su minėtu junginiu 1 valandą laiko, esant 10mM junginio koncentracijai. Po to ląstelės t.y. NOD2 receptoriai buvo stimuliuojami 18 valandų. Tada atliktas spektrofotometrinis nustatymas, kurio metu išmatuotas šarminės fosfatazės aktyvumas. Nustatyta, kad paveikus ląsteles benzimidazolu **12** receptorių aktyvumas sumažėja iki 25% lyginant su ląstelėmis, kurios nebuvo paveiktos junginiu [16]. Tai parodo stiprų antagonistinį poveikį NOD2 receptoriams.



1.9 Pav. Benzimidazolo darinio, veikiančio kaip NOD2 receptorių antagonistas, struktūra

Kitas junginys, kuris yra sudarytas iš dviejų benzimidazolo **2** žiedų, vadinamas domperidonu **13** (1.10 Pav.). Jis pasižymi tuo, kad veikia kaip antiemetikas, tai yra vaistai nuo pykinimo [17]. Antiemetikai dažniausiai padeda lengviau ištvirti chemoterapiją – slopina chemoterapijos sukeltą pykinimą. Domperidono antiemetinės savybės yra susijusios su blokuojančiu poveikiu periferiniuose dopamino receptoriuose. Jo aktyvumas nustatytas atliekant tyrimą su žiurkės smegenų ląstelių membranomis. Nustatyta, kad pusė didžiausios slopinamosios koncentracijos yra lygu $IC_{50} = 6.95 \text{ nM}$ [18]. Šis tyrimo rezultatas įrodo stiprias benzimidazolo **13** antiemetines savybes.



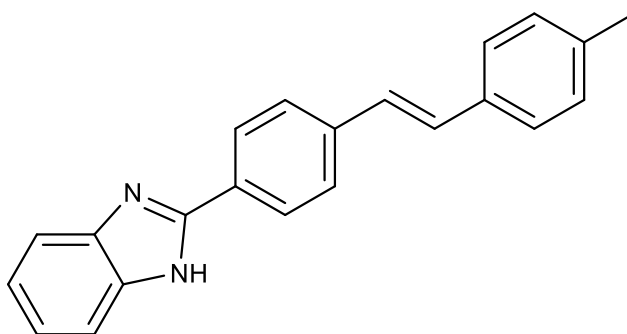
1.10 Pav. Benzimidazolo domperidono struktūra

Kai kurie benzimidazoli gali pasižymėti net ir keliais biologiniais aktyvumais. Tokio junginio pavyzdys yra benzimidazolas **14** (1.11 Pav.). Jis pasižymi antioksidaciniu, priešuždegiminiu ir net analgetiniu poveikiu [19]. Šie poveikiai labai aktualūs šiuolaikinei visuomenei – buvo pripažinta, kad daugelis tokių ligų kaip vėžys, širdies ir kraujagyslių ligos bei diabetas prisideda prie lėtinio uždegimo. Taip pat, manoma, kad uždegimo metu organizme gaminasi reaktyvaus deguonies rūšys. Antioksidantai yra agentai, kurie kovoja su laisvaisiais radikalais įsiterpdami į jų oksidacinius

procesus organizme. Todėl agentai, turintys antioksidacinių savybių gali padėti sumažinti destruktivyvų uždegimo procesą.

Nustatinėjant antioksidacines benzimidazolo **14** savybes buvo atliktas DPPH radikalų pašalinimo testas. Antioksidacinis aktyvumas nustatomas lyginant radikalų šalinimo efektyvumą su askorbo rūgštimi, kuri yra žinomas antioksidantas. Rezultatai parodė, kad benzimidazolas **14** net 81,3% efektyviau šalino laisvuosius radikalus, nei askorbo rūgštis. Tai įrodo stiprias junginio **14** antioksidacines savybes.

Kaip jau buvo minėta, benzimidazolas **14** taip pat pasižymi ir analgetinėmis savybėmis. Šis aktyvumas buvo nustatytas atliekant eksperimentą su pelėmis – gyvūnams buvo skirta 50 mg/kg tiriamojo junginio dozė (kontrolinei grupei šio junginio dozė nebuvo skiriama). Tada pelėms cheminiu būdu buvo sukeltas periferinis skausmas – suleista acto rūgštis. Junginio **14** analgetinis poveikis buvo nustatomas skaičiuojant pelių riešų trūkčiojimus, kurie kilo dėl patiriamo skausmo. Nustatyta, kad pelių, kurioms buvo suleistas tiriamasis junginys **14**, riešų trūkčiojimas sumažėjo iki 45% lyginant su kontroline grupe. Analgetinių savybių palyginimui, grupei pelių buvo suleistas aspirinas – klasikinis nesteroidinis priešuždegiminis vaistas. Šios grupės riešų trūkčiojimas buvo mažesnis 48% (3% didesnis nei tiriant benzimidazolo **14** efektyvumą) - tai įrodo stiprų analgetinį benzimidazolo **14** poveikį.

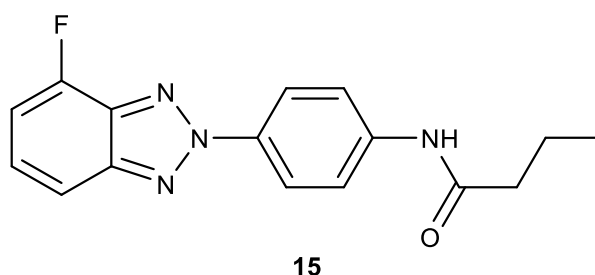


14

1.11 Pav. Benzimidazolas, pasižymintis antioksidaciniu, priešuždegiminiu ir analgetiniu aktyvumu

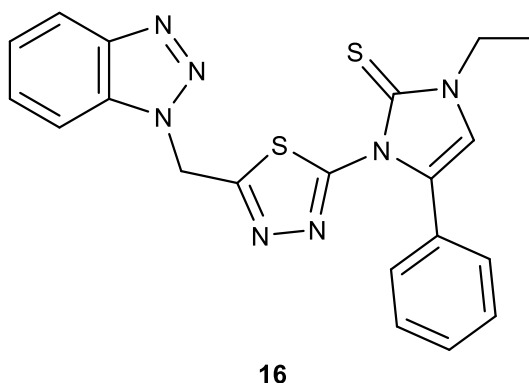
1.3.3. Benzotriazolo junginiai

Kaip jau buvo minėta, indolo izosterai – benzotriazolai **3** – taip pat pasižymi įvairiu biologiniu aktyvumu. Vienas iš pavyzdžių būtų antivirusinis poveikis, kuriuo pasižymi benzotriazolas **15** (1.12 Pav.) [20]. Šis benzotriazolas **15** kartu su jo analogais (panašios struktūros junginiais su skirtingais pakaitais) pasižymi antivirusiniu poveikiu prieš keletą patogenų rūšių. Pavyzdžiui CV-B5 – vienas iš šešių „Coxsackie B“ patogeninio enterovirusų – yra labiausiai paplitęs serotipas žmonėms, sukeliantis virusinį miokarditą. Prieš šį patogeną benzotriazolo **15** IC₅₀ yra lygi 10,2 μM. Kitas patogenas, prieš kurį šių benzotriazolų grupė taip pat pasižymi antivirusiniu poveikiu, yra Sb-1 – poliovirusas. Tai yra poliomielitą sukėlėjas. Jis pasireiškia ūmia virusine infekcija bei vangiu raumenų paralyžiumi. Prieš šį virusą benzotriazolo **15** pusė maksimalios slopinančios koncentracijos IC₅₀ = 3,8 μM.



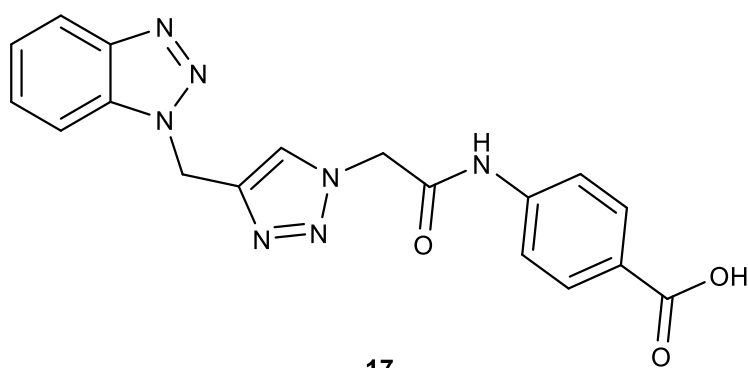
1.12 Pav. Benzotriazolas pasižymintis antivirusiniu aktyvumu

Kai kurie benzotriazoliai, pavyzdžiui junginys **16** (1.13 Pav.) pasižymi anksiolitiniu poveikiu [21]. Anksiolitikai sunaikina nerimo, sielvarto, dirglumo ir depresijos jausmą bei kovoja su pačia liga. Tiriant šio junginio aktyvumą, buvo atliktas eksperimentas su žiurkėmis. Jo metu benzotriazolo **16** poveikis buvo palygintas su Diazepamu – komerciniu vaistu, veikiančiu kaip anksiolitikas. Atliekant tyrimą, grupei tiriamųjų pelių 10 dienų buvo tiekiamas benzotriazolas **16** arba Diazepamas 2 mg/kg dozėmis. Kontrolinei grupei nebuvo tiekiamas nei vienas iš minėtų junginių. Junginio aktyvumas nustatytas sukeltas stresines sąlygas paleidus žiurkes į labirintą ir stebint jų elgesį jame. Pelių elgesys, kurioms buvo duodamas benzotriazolas **16** arba Diazepamas, buvo daug ramesnis nei kontrolinės grupės. Kai kuriais atvejais žiurkės, kurioms buvo tiekiamas benzotriazolas **16** elgėsi net ramiau nei tos, kurioms buvo duodamas Diazepamas. Tai parodo stiprų benzotriazolo **16** anksiolitinį poveikį.



1.13 Pav. Benzotriazolas pasižymintis anksiolitiniu poveikiu

Įvairūs benzotriazoliai taip pat pasižymi ir priešvėžiniu aktyvumu, o tai yra labai aktualu šiuolaikiniame pasaulyje. Pasaulio sveikatos organizacijos (PSO) duomenimis 2020 metais nuo vėžio mirė beveik 10 milijonų žmonių. Dėl to benzotriazolo darinių priešvėžinis aktyvumas kelia didelį susidomėjimą – kai kurie jų gali tapti potencialiais kandidatais kuriant priešvėžinius vaistus. Pavyzdžiui, moksliniais tyrimais yra nustatyta, kad benzotriazolas **17** (1.14 Pav.) pasižymi priešvėžiniu aktyvumu, net prieš dvi plaučių vėžio ląstelių linijas – A549 ir H-1299 [22]. Tiriant junginio biologinį aktyvumą, iš pradžių ląstelės buvo pasėtos į lėkšteles ir inkubuojamos bei suskaičiuotos po inkubacinio periodo. Junginio priešvėžinės savybės nustatytos paveikus ląsteles benzotriazolu **17** ir išmatavus ląstelių gyvybingumą po 24 valandų nuo junginio pridėjimo į lėkšteles. Gyvybingumas nustatytas pakartotinai suskaičiavus ląsteles. Gauti rezultatai parodė, kad ląstelių A549 gyvybingumas siekė 14%, o ląstelių H-1299 – 10%. Tai reiškia, kad tiriamojo junginio inhibicijos procentas prieš atitinkamas ląsteles siekia 86% ir 90%. Dėl to, benzotriazolas **17** pasižymi stipriomis priešvėžinėmis savybėmis ir yra potencialus kandidatas į vaistus nuo vėžio.



17

1.14 Pav. Benzotriazolas pasižymintis priešvėžiniu aktyvumu prieš A549 ir H-1299 ląstelių linijas

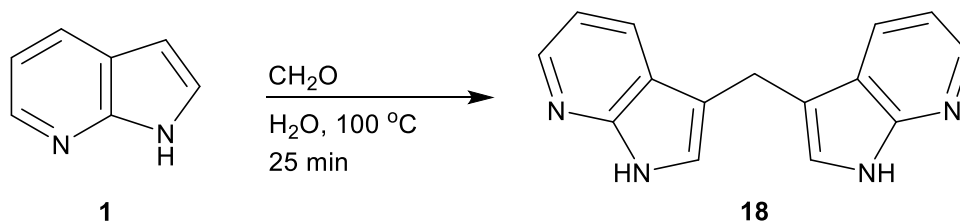
1.4. Bisindolų izosterų sintezė

Atliekant baigiamąjį bakalauro darbą jau buvo atlikta literatūros analizė apie įvairius sintetinius ir natūralius bisindolus bei jų savybes. Dėl to žinant platų bisindolų bei įvairių indolų izosterų biologinį aktyvumą, stebėtina tai, kad yra sąlyginai nedaug susintetintų įvairių bisindolų izosterų pavyzdžiui bis-7-azaindolų ar bisbenzimidazolų. Vis dėlto reikia išanalizuoti jau esamus sintezės metodus, prieš pradant sintezės kelio planavimą.

Sintetinant biologiškai aktyvius junginius, kurie yra potencialūs kandidatai būti veikliosiomis vaistų medžiagomis, labai svarbu atkreipti dėmesį, kokie reagentai buvo naudojami sintezės metu. Naudoti reagentai gali būti aptikti vaistų sudėtyje ir priklausomai nuo jų kiekio gali padaryti labai didelės žalos žmogaus organizmui. Taip pat atliekant sintezę gaunamos atliekos, kurios priklausomai nuo jų toksiškumo gali padaryti žalą ne tik žmogui, bet ir aplinkai. Dėl to sintetinant biologiškai aktyvius junginius reikia atkreipti dėmesį kokie buvo naudojami tirpikliai, pradinės medžiagos ar kiti pridėtiniai reagentai.

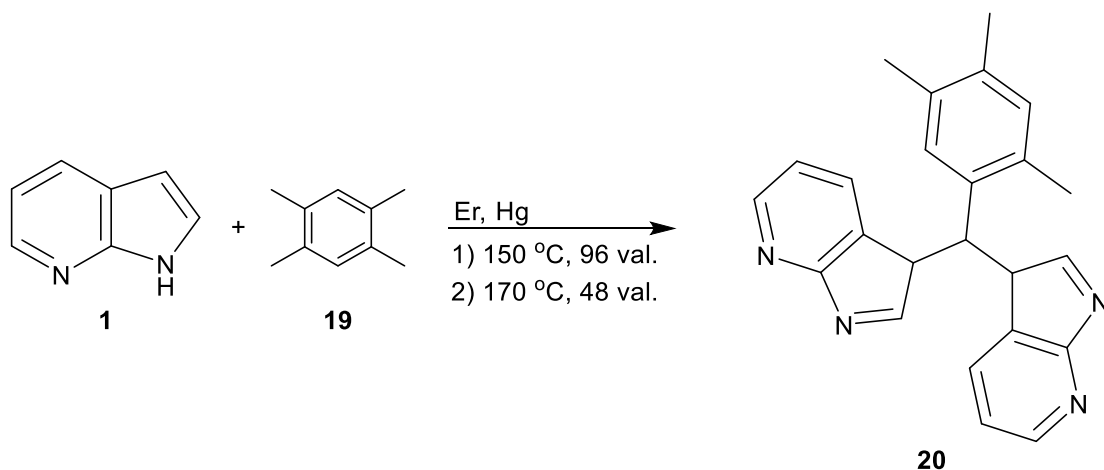
1.4.1. Bis-7-azaindolų sintezė

Žinant, kad sintetinių bis-7-azaindolų grupė nėra plačiai ištyrinėta, stebina tai, jog kai kurie šio tipo junginių sintezės metodai yra labai elementarūs, sąlyginai netoksiški ir atitinka kai kuriuos žaliosios chemijos sintezės principus. Pavyzdžiui bisazaindolų sintezė gali būti atliekama kaip tirpiklį naudojant vandenį (1.15 Pav.) [23]. Tokio tipo reakcija atliekama mikrobangų reaktoriuje į reakcijos mišinį įdėjus 7-azaindolo **1** ir formaldehido. Reakcija vykdoma 100 °C temperatūroje 25 minutes. Įvykus reakcijai mišinys ekstrahuojamas, o produktas gryninamas kolonėlinės chromatografijos metodu. Gauto produkto išeiga siekia 82%.



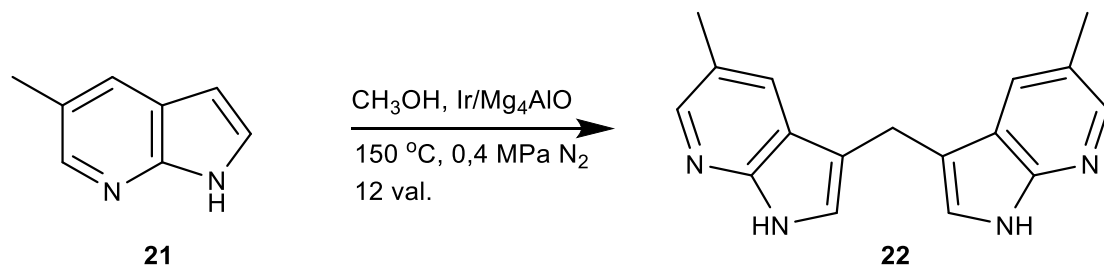
1.15 Pav. Bis-7-azaindolų sintezė pagal žaliosios chemijos principus

Žinoma, toli gražu ne visi sintezės metodai yra tokie ekologiški ir nekenksmingi žmogui ar aplinkai. Tai gerai iliustruoja kitas sintezės metodas, kuriam yra naudojamas gyvsidabris (1.16 Pav.). Atliekant sintezę Erblio metalas, 7-azaindolas **1**, 1,2,4,5-tetrametilbenzenas **19** ir keli lašai elementinio gyvsidabrio buvo sandariai uždaryti reakcijos inde [24]. Iš pradžių reakcijos mišinys buvo pašildytas iki 150 °C temperatūros ir tokiomis sąlygomis laikytas 4 dienas. Tada temperatūra pakelta iki 170 °C ir reakcija vykdyta dar dvi dienas. Gautas tikslinis produktas – bis-7-azaindolas **20** su aromatinium žiedu. Tačiau jo išeiga siekia vos 40%. Taigi galime apibendrintai pasakyti, kad toks sintezės metodas nėra nei ekonomiškąs nei ekologiškąs, yra labai toksiškąs vien dėl naudojamo gyvsidabrio ir mažai tikėtina, kad jis būtų pritaikytąs sintetinant veikliąsias vaistines medžiagas.



1.16 Pav. Bis-7-azaindolo sintezė naudojant gyvsidabrij

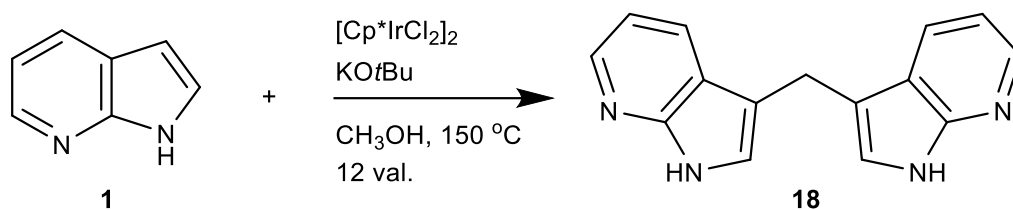
Kitas būdas sintetinti bis-7-azaindulus yra reakcijai naudoti iridžio katalizatorių su magnio ir aliuminio oksidais, kuris yra skirtas metanolio aktyvacijai (1.17 Pav.) [25]. Šios katalizinės sistemos privalumas yra tas, kad ji yra sąlyginai ekologiška – iridžio katalizatorių galima panaudoti daug kartų sekančioms pakartotinėms reakcijoms. Tačiau tokio tipo sintezei reikalinga speciali aparatūra t.y. autoklavas, kadangi reakcija turi būti vykdoma 0,4 MPa azoto dujų slėgyje. Sintezės procedūra atliekama šitaip: pirmiausiai į autoklavą įleidžiamas reakcijos mišinys su azaindolu **21**, metanolium ir minėtuju iridžio katalizatoriumi. Reaktorius užsandarinamas ir į vidų leidžiant azoto dujas pasiekiamas 0,4 MPa slėgis. Intensyviai maišant reakcijos mišinį jo temperatūra pakeliama iki 150 °C. Reakcija vykdoma 12 val. Pasibaigus reakcijai mišinys atvėsinamas iki kambario temperatūros, katalizatorius nufiltruojamas ir gali būti panaudotas kitai sintezei. Šios reakcijos išeiga siekia 62%.



1.17 Pav. Bis-7-azaindolų sintezė naudojant iridžio katalizatorių

Kitam bis-7-azaindolų sintezės procesui yra naudojamas specialus katalizatorius [Cp*IrCl₂]₂ – pentametilciklopentadieniridžio dichlorido dimeras (1.18 Pav.) [26]. Pirmiausiai, 7-azaindolas **1**,

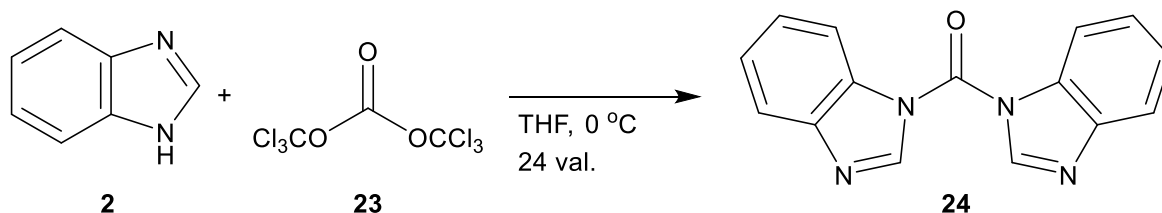
metanolis, kalio *tert*-butoksidas (KOtBu) ir minėtasis katalizatorius supilami į reakcijos indą, į kurį iš anksto buvo prileista azoto dujų. Reakcija vykdoma 150 °C temperatūroje 12 val. Įvykus reakcijai mišinys paliekamas atvėsti iki aplinkos temperatūros. Tikslinis produktas išgryninamas kolonėlinės skysčių chromatografijos metodu. Gauta junginio išeiga – 80%.



1.18 Pav. Bis-7-azaindolo sintezė katalizuojama su $[\text{Cp}^*\text{IrCl}_2]_2$

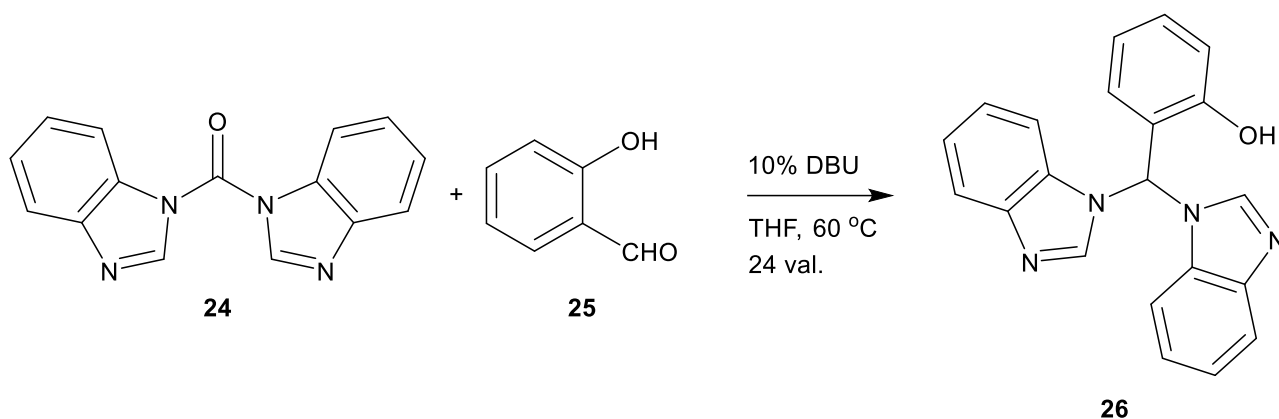
1.4.2. Bisbenzimidazolų sintezė

Vienas iš metodų gauti bisbenzimidazolus yra iš pradžių į reakcijos indą pridėti trifosgeno ir pripilti bevandenio THF esant inertinei azoto aplinkai (1.19 Pav.) [27]. Tada tirpalas atvėsina iki 0 °C temperatūros ir per švirkštą sulašinamas benzimidazolas **2**. Reakcijos mišinys buvo maišomas 24 valandas. Pasibaigus reakcijai mišinys nufiltruojamas, o filtratas sukonzentruojamas rotaciniame garintuve, produktas išgryninamas skysčiu chromatografijos metodu. Šios reakcijos išeiga siekia 80%, o produktas panaudojamas tolimesnei sintezei. Analogišką sintezę taip pat galima atlikti su metilintais benzimidazolais, kai metilo grupė yra 2-oje benzimidazolo padėtyje ir šiuo atveju gauto junginio išeiga siekia net 96% procentus.



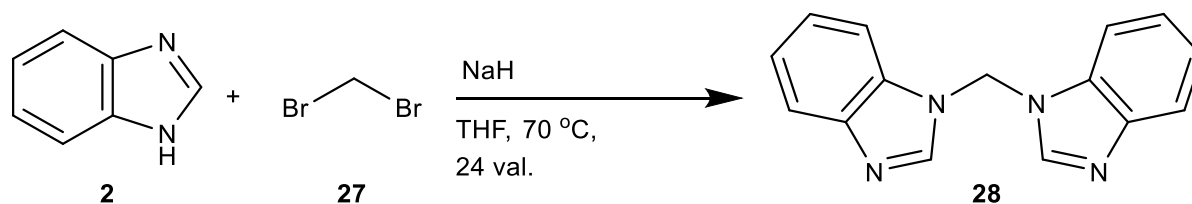
1.19 Pav. Bisbenzimidazolo sintezė

Toliau siekiant gauti bisindolų izosterus su aromatiniais pakaitais galima tolimesnę sintezę kaip pradinį junginį panaudojant bisbenzimidazolą **24** (1.20 Pav.). Reakcija atliekama su 2-hidroksibenzaldehidu **25** naudojant DBU katalizatorių bei bevandenį THF. Reakcija vykdyta 60 °C temperatūroje 24 val. Gautas kristalinės būsenos produktas, kuris buvo atskirtas iš reakcijos mišinio filtruojant. Gautas junginys **26** su 61% išeiga. Įdomu tai, kad atliekant analogišką reakciją su metilintais benzimidazolais šioje stadijoje gaunama gerokai mažesnė 41% išeiga, nors pirmoje stadijoje išeiga buvo didesnė nei reakcijos su paprastais benzimidazolais.



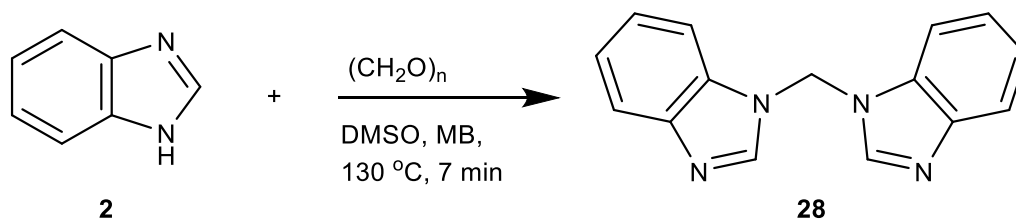
1.20 Pav. Aromatinio žiedo prijungimo prie bisbenzimidazolo reakcija

Kitam bisbenzimidazolu sintezės metodui naudojamas dibromometanas **27** (1.21 Pav.) [28]. Pirmiausiai į reakcijos indą supilamas sausas THF ir jame ištirpinamas benzimidazolas **2**. Toliau nuolat maišant tirpalą, kambario temperatūroje į mišinį buvo lėtai pridėdama NaH, o po jo ir dibromometano **27**. Mišinys kaitinamas iki 70 °C ir reakcija vykdoma 24 val. Įvykus reakcijai karštas tirpalas filtruojamas ir plaunamas tris kartus su THF. Nufiltruotai medžiagai leista išdžiūti kambario temperatūroje, o po to surinkti kristalai perkristalizuoti iš THF. Šios sintezės rezultatas balti kristalai, o išeiga siekia 85 %. Atsižvelgiant į naudojamus reagentus ir išeigą, galima teigti, kad šis sintezės procesas yra sąlyginai efektyvus.



1.21 Pav. Bisbenzimidazolo sintezė naudojant dibromometaną

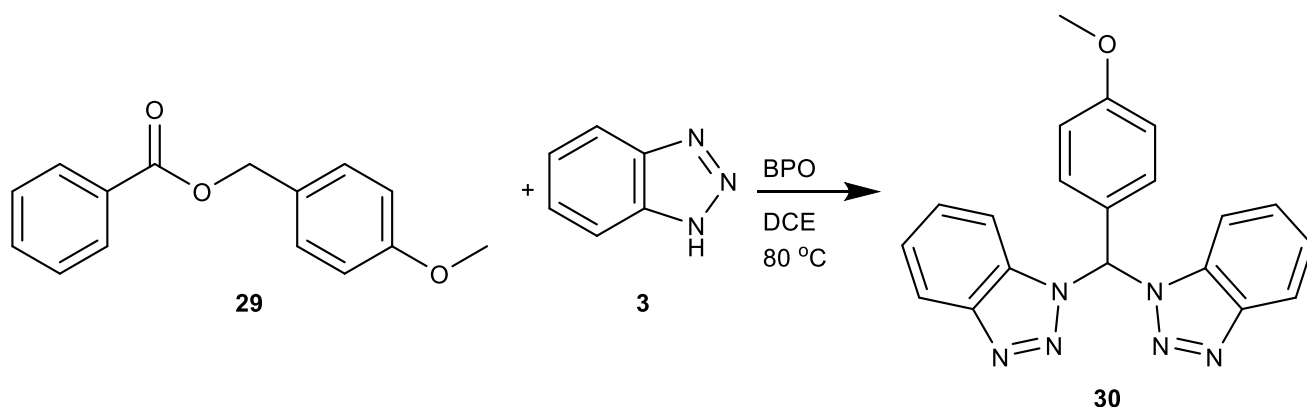
Dar vienam bisbenzimidazolu sintezės metodui atlikti gali būti panaudotas mikrobangų reaktorius (1.22 Pav.) [29]. Reakcija atliekama iš pradžių ištirpinant benzimidazolą **2** ir paraformaldehydą DMSO tirpiklyje. Reakcija vykdoma mikrobangų reaktoriuje 130 °C temperatūroje, naudojant labai aukštą mikrobangų absorbcijos lygį. Tokio tipo sintezė vyksta vos 7 minutes. Pasibaigus reakcijai, mišinys atvėsinamas iki 50 °C ir jį maišant užpilamas šaltu vandeniu. Produktas atskiriamas nuo reakcijos mišinio jį filtruojant. Gautos reakcijos išeiga siekia vos 47%. Taigi, nors ši reakcija išsiskiria savo greitumu, bet išeiga nėra labai didelė, dėl to atliekant tokio tipo reakcija reikia didelių reagentų sąnaudų, o tai yra brangu ir neekologiška nes reakcijos metu susidaro daug atliekų.



1.22 Pav. Bisbenzimidazolu sintezė mikrobangų reaktoriuje

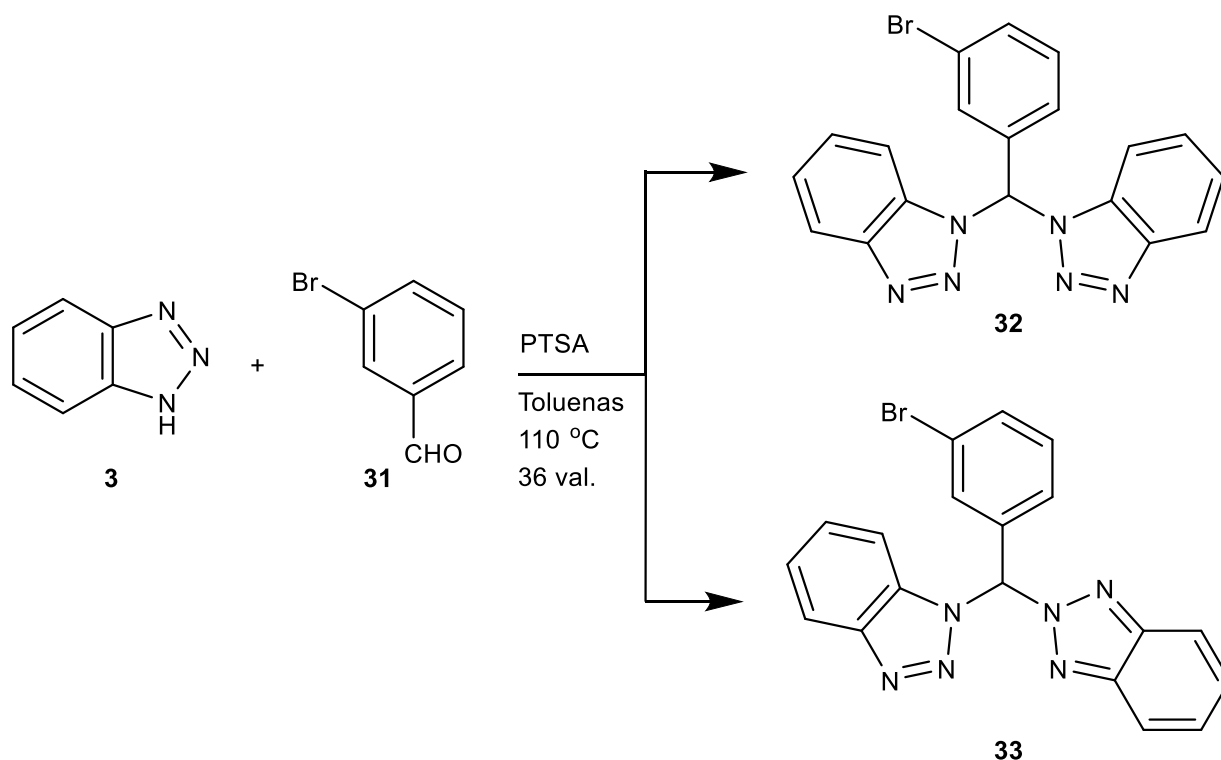
1.4.3. Bisbenzotriazolų sintezė

Vienas iš metodų kaip gauti 3,3'-bisbenzotriazolus yra oksidatoriaus benzoilperoksido (BPO) panaudojimas bisbenzotriazolų sintezei (1.23 Pav.) [30]. Į reakcijos indą dedamas benzotriazolas **3**, 4-metoksibenzilbenzoatas **29** ir minėtasis oksidatorius BPO. Reakcija atliekama dichloreтана, 80 °C temperatūroje, vykdant reakciją 6 valandas su nuolatiniu maišymu. Pasibaigus reakcijai į mišinį yra įpilamas prisotintas Na₂S₂O₃ tirpalas tam, kad sureaguotu su likusiu oksidatorium. Deja šios reakcijos išeiga siekia vos 30%, dėl to ji yra neefektyvi ir brangi.



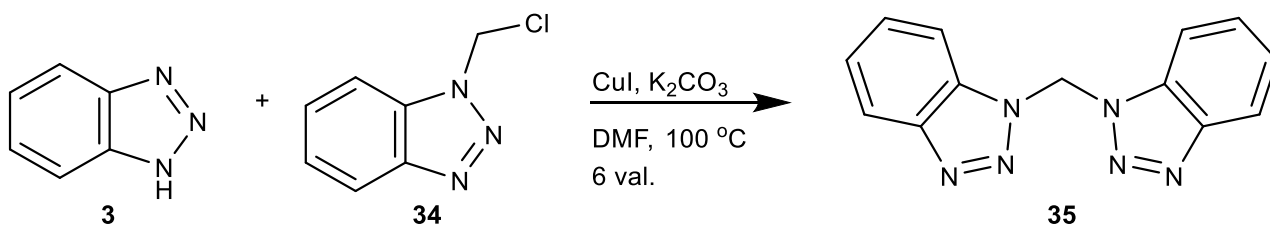
1.23 Pav. Bisbenzotriazolo sintezė naudojant benzoilperoksida

Kitam sintezės metodui yra naudojama *p*-toluensulfonrūgštis (1.24 Pav.) [31]. Bendroji procedūra atrodo taip: į aromatinio aldehido **31** ir benzotriazolo **3** tirpalą toluene pridedama PTSA. Tada reakcijos mišinys šildomas iki 110 °C ir reakcija vykdoma 36 valandas. Gautas rudos spalvos mišinys atvėsinamas iki kambario temperatūros ir vykdoma ekstrakcija. Šios reakcijos metu gaunami du produktai – du skirtingi bisbenzotriazolai, kurių išeigos yra: junginio **32** - 49% ir junginio **33** -10%. Tai šiek tiek apsunkina tikslinio produkto gryninimo procesą.



1.24 Pav. Bisbenzotriazolų sintezė naudojant PTSA

Kitas sintezės metodas yra atliekamas su benzotriazolu, turinčiu chlormetilo pakaitą prie trečio azoto atomo (1.25 Pav.) [32]. Šiai sintezei atlikti pirmiausiai į reakcijos indą sudedami benzotriazolai **3** ir **34** bei tirpiklis DMF. Į reakcijos mišinį toliau pridedama vario jodido bei kalio karbonato. Tada mišinys pakaitinamas iki 100 °C temperatūros ir reakcija vykdoma 6 valandas. Pasibaigus reakcijai, mišinys paliekamas atvėsti iki kambario temperatūros, tuomet į jį įpilama etilacetato tam, kad susidarytu suspensija, kuri toliau filtruojama. Filtratas sukonzentruojamas, o produktas gryninamas kolonėlinės chromatografijos principu. Gaunama 90% tikslinio junginio išeiga. Atsižvelgiant į naudotus reagentus ir išeiga, galima teigti, kad šis metodas yra sąlyginai efektyvus ir ekonomiškai palyginus su kitais bisindolų sintezės metodais.



1.25 Pav. Bisbenzotriazolo sintezė su vario jodidu

1.5. Apibendrinimas

Įvairūs bisindolų izosterai turi labai daug įvairių savybių, pavyzdžiui pasižymi priešvėžiniu, antihelminciniu, antivirusiniu, antibakteriniu, antimikrobiniu, antimikobakteriniu, antiprotozoininiu, priešūždegiminiu, priešnavikiniu, antimaliariniu, priešgrybeliniu, prieštuberkulioziniu ir daugeliu kitų aktyvumų.

Atsižvelgus į literatūros analizę, šiuo darbu yra siekiama rasti naują sintezės būdą bisindolų izosterams sintetinti, kuriam būtų naudojami mažiau toksiški reagentai nei įprastai ir optimizuoti šį metodą, bei susintetinti naujus bisindolų izosterus. Atlikus literatūros analizę manoma, kad šie junginiai turėtų būti biologiškai aktyvūs.

2. Medžiagos ir tyrimų metodai

2.1. Analizės atlikimo metodika

Reakcijoms naudoti reagentai buvo komerciškai prieinami. Jie nebuvo papildomai gryninami ar tikrinamas jų grynumas.

Sintezei atlikti naudotas mikrobangų reaktorius CEM Discovery Synthesis Unit – jį sudaro nuolat energiją tiekianti sistema. Reakcijoms vykdyti buvo naudota 100 W galia. Reakcijos buvo atliekamos 10 ml tūrio inde, kuriame maksimalus mišinio tūris gali siekti 7 ml.

Sintezės eiga bei reakcijų pabaiga tikrinamos ir nustatytos plonasluoksnės chromatografijos metodu. Chromatografijai naudotos silikagelio plokštelės iš Macherey-Nagel – Silica Gel 0,2 mm storio, 60F-254. Plokštelių analizė atlikta naudojant 253nm bei 366 nm UV lempą. Pagal poreikį atliktas ir plokštelių ryškinimas naudojant KMnO_4 tirpalą. Šis tirpalas buvo paruoštas 200 ml H_2O ištirpinus 1,5g KMnO_4 , 10 g K_2CO_3 bei 1,25 ml 10% koncentracijos NaOH tirpalo.

Susintetintos cheminės medžiagos buvo gryninamos kolonėlinės chromatografijos metodu arba kristalinimo būdu. Chromatografijai kaip kolonos užpildas naudotas Macherey-Nagel įmonės silikagelis – Silica Gel 1 60Å (230-400 mesh). Kristalizacijai buvo naudotas DCM, tirpinantis priemaišas, bet mažai tirpinantis tikslinius produktus.

Protoniniams ^1H ir angliniams ^{13}C BMR spektrams rašyti naudotas Bruker Avance III spektrometras–400 MHz BMR ^1H bei 101 MHz BMR ^{13}C . BMR spektrai rašyti naudojant deuteriuotą tirpiklį $(\text{CD}_3)_2\text{SO}$. Bandiniai paruošiami 20-30 mg ištirpinant 0,55ml $\text{DMSO-}d_6$. Esant būtinybei buvo rašomi ir DEPT spektrai siekiant atlikti tikslią junginio struktūros analizę. Spektrai apdoroti ir analizuoti naudojant programinę įrangą Mestrenova 14.2 versiją iš Mestrelab Research.

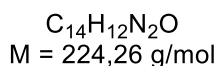
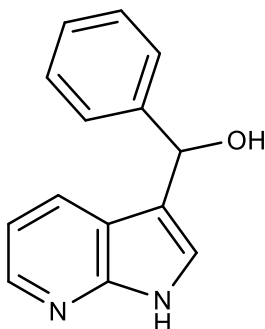
Susintetintų junginių masės spektrai buvo rašomi Shimadzu LCMS-2020, naudojant teigiamą režimą - ESI⁺ jonizaciją. Taip pat užrašyti ir aukštos rezoliucijos masių spektrai (HRMS) naudojant Bruker micro TOF-QIII (ESI⁺) masių spektrometrą.

Junginių lydymosi temperatūros (t_{lyd}) buvo nustatomos naudojant Büchi Melting Point M-560 prietaisą su atvirais kapiliarais ir yra nekoreguotos.

Junginių struktūros papildomai patvirtintos, t.y. nustatomos jų funkcinės grupės užrašant jų infraraudonuosius (IR) spektrus.

2.2. Junginių sintezė ir analizė

Fenil(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)metanolis (10)



Į 7-azaindolo **2** (150 mg, 1,27 mmol) tirpalą metanolio (10 ml) ir vandens (10 ml) mišinyje suberiamas KOH (236 mg, 4,2 mmol) bei sulašinamas benzaldehidas **3** (65 μ l, 0,63 mmol). Reakcija vykdoma kambario temperatūroje (20 °C) 48 val. Pasibaigus reakcijai, mišinys neutralizuojamas 4N HCl, vykdoma ekstrakcija etilacetatu (30 ml) ir mišinys praplaunamas distiliuotu vandeniu (3 \times 30 ml). Organinis sluoksnis surenkamas ir džiovinamas bevandeniu Na₂SO₄. Mišinys nufiltruojamas ir nugarinamas. Produktas kristalinamas iš dichlormetano, nufiltruojamas.

$R_f = 0,3$ (EA-heksano mišinys tūriniu santykiu 1:1).

Išeiga: 107,5 mg (75,6 %), balti kristalai.

$t_{\text{lyd}} = 126\text{-}127 \text{ }^\circ\text{C}$

¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 5,72 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H); 5,96 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H); 6,96 (dd, $J = 7,9$ Hz, 4,6 Hz, 1H); 7,17 – 7,27 (m, 2H); 7,31 (dd, $J = 8,3$ Hz, 6,9 Hz, 2H); 7,47 (d, $J = 7,6$ Hz, 2H); 7,82 (dd, $J = 7,8$ Hz, 1,7 Hz, 1H); 8,16 (dd, $J = 4,7$ Hz, 1,7 Hz, 1H); 11,44 (s, 1H).

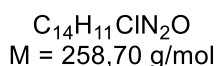
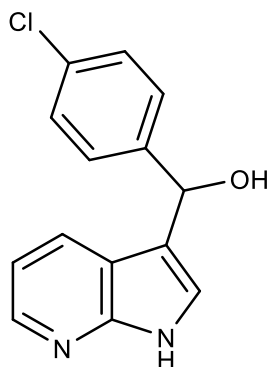
¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 68,9; 114,9; 117,85; 118,5; 122,8; 126,2 (2 \times C); 126,58; 127,7; 127,9 (2 \times C); 142,7; 145,5; 148,9.

IR (grynas, cm⁻¹): $\nu_{\text{N-H}} = 3345$; $\nu_{\text{O-H}} = 3480$.

MS (ESI⁺): m/z (%): 225 ([M+H]⁺, 100).

HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺, C₁₄H₁₃N₂O; apskaičiuota: 225,1022; nustatyta: 225,1022.

(4-Chlorfenil)(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)metanolis (11)



Į 7-azaindolo **2** (300 mg, 2,54 mmol) tirpalą metanolio (10 ml) ir vandens (10 ml) mišinyje suberiamas KOH (476,5 mg, 8,5 mmol) ir 4-chlorbenzaldehydas **4** (177,8 mg, 1,27 mmol). Reakcija vykdoma kambario temperatūroje (20 °C) 48 val. Pasibaigus reakcijai, mišinys neutralizuojamas 4N HCl, vykdoma ekstrakcija etilacetatu (30 ml) ir praplaunama distiliuotu vandeniu (3 × 30 ml). Organinis sluoksnius surenkamas ir džiovinamas bevandeniu Na₂SO₄. Mišinys nufiltruojamas ir nugarinamas. Produktas kristalinamas iš dichlormetano bei nufiltruojamas.

$R_f = 0,3$ (EA-heksano mišinys tūriniu santykiu 1:2).

Išeiiga: 142,2 mg (43,4 %), balti kristalai.

$t_{lyd} = 165-166 \text{ °C}$

¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 4,94 (d, $J = 4,3 \text{ Hz}$, 1H), 5,09 (d, $J = 4,4 \text{ Hz}$, 1H), 6,10 (dd, $J = 7,9 \text{ Hz}$, 4,7Hz, 1H), 6,40 (d, $J = 2,5 \text{ Hz}$, 1H), 6,50 (d, $J = 8,3 \text{ Hz}$, 2H), 6,61 (d, $J = 8,2 \text{ Hz}$, 2H), 6,93 (dd, $J = 7,9 \text{ Hz}$, 1,5 Hz, 1H), 7,30 (dd, $J = 4,7 \text{ Hz}$, 1,6Hz, 1H), 10,59 (s, 1H).

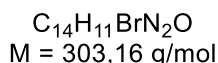
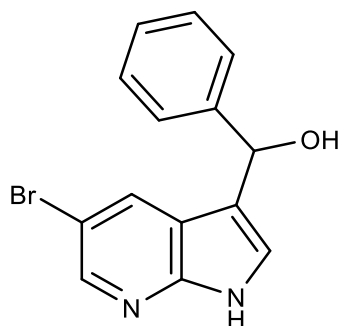
¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 68,1; 115,0; 117,7; 118,0; 123,0; 127,6; 127,9 (2 × C); 128,1 (2 × C); 131,0; 142,6; 144,5; 148,9.

IR (grynas, cm⁻¹): $\nu_{N-H} = 3218$; $\nu_{O-H} = 3348$.

MS (ESI⁺): m/z (%): 259 ([M+H]⁺, 100).

HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺, C₁₄H₁₂ClN₂O; apskaičiuota: 259,0633; nustatyta: 259,0633.

(5-Brom-1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)(fenil)metanolis (13)



Į 5-brom-7-azaindolo **12** (200 mg, 1,02 mmol) tirpalą metanolio (10 ml) ir vandens (10 ml) mišinyje suberiamas KOH (375,2 mg, 83,4 mmol) ir sulaišinamas benzaldehidas **3** (52 μ l, 0,51 mmol). Reakcija vykdoma kambario temperatūroje (20 °C) 48 val. Pasibaigus reakcijai, mišinys neutralizuojamas 4N HCl, vykdoma ekstrakcija etilacetatu (30 ml) ir praplaunama distiliuotu vandeniu (3 \times 30 ml). Organinis sluoksnis surenkamas ir džiovinamas bevandeniu Na_2SO_4 . Mišinys nufiltruojamas ir nugarinamas. Produktas kristalinamas iš dichlormetano bei nufiltruojamas.

$R_f = 0,2$ (EA-heksano mišinys tūriniu santykiu 1:2).

Išeiga: 60,5 mg (39,1 %), balti kristalai.

$t_{lyd} = 175-176 \text{ }^\circ\text{C}$

^1H BMR (400 MHz, DMSO- d_6): δ 5,79 (d, $J = 4,4$ Hz, 1H), 5,94 (d, $J = 4,5$ Hz, 1H), 7,22 (t, $J = 7,3$ Hz, 1H), 7,27 – 7,39 (m, 3H), 7,45 (d, $J = 7,5$ Hz, 2H), 7,97 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 8,22 (d, $J = 2,2$ Hz, 1H), 11,71 (s, 1H).

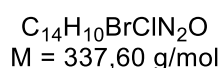
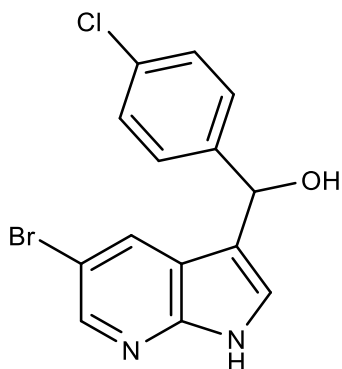
^{13}C BMR (101 MHz, DMSO- d_6): δ 68,5; 110,2; 118,4; 119,6; 124,9; 126,2 (2 \times C); 126,7; 128,0 (2 \times C); 129,6; 142,4; 145,1; 147,1.

IR (grynas, cm^{-1}): $\nu_{\text{N-H}} = 3210$; $\nu_{\text{O-H}} = 3300$.

MS (ESI $^+$): m/z (%): 304 ([M+H] $^+$, 100).

HRMS (ESI $^+$): [M+H] $^+$, $C_{14}H_{12}BrN_2O$; apskaičiuota: 303,0127; nustatyta: 303,0128.

(5-Brom-1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)4-chlorfenil)metanolis (14)



Į 5-brom-7-azaindolo **12** (200 mg, 1,02 mmol) tirpalą metanolio (10 ml) ir vandens (10 ml) mišinyje suberiamas KOH (190,4 mg, 3,4 mmol) ir 4-chlorbenzaldehydas **4** (71,4 mg, 0,51 mmol). Reakcija vykdoma kambario temperatūroje (20 °C) 48 val. Pasibaigus reakcijai, mišinys neutralizuojamas 4N HCl, vykdoma ekstrakcija etilacetatu (30 ml) ir praplaunama distiliuotu vandeniu (3 × 30 ml). Organinis sluoksnis surenkamas ir džiovinamas bevandeniu Na₂SO₄. Mišinys nufiltruojamas ir nugarinamas. Produktui išgryninti naudojamas kolonėlinės chromatografijos metodas. Naudojamas eliuentas EA-heksanas, tūriniu santykiu nuo 1:4 iki 1:1.

$R_f = 0,2$ (EA-heksano mišinys tūriniu santykiu 1:2).

Išeiga: 47,2 mg (27,4 %), gelsvi kristalai.

$t_{lyd} = 172-173 \text{ }^\circ\text{C}$

¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 5,83 – 6,01 (m, 2H), 7,34 (d, $J = 2,5 \text{ Hz}$, 1H), 7,35-7,40 (m, 2H), 7,43 - 7,51 (m, 2H), 8,00 (d, $J = 2,3 \text{ Hz}$, 1H), 8,23 (d, $J = 2,2 \text{ Hz}$, 1H), 11,75 (s, 1H).

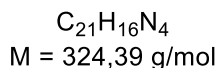
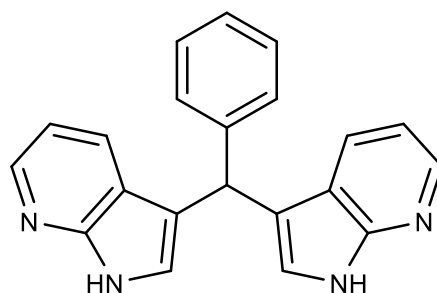
¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 67,7; 110,3; 117,9; 119,5; 125,0; 128,0 (2 × C); 128,1 (2 × C); 129,5; 131,2; 142,6; 144,1; 147,1.

IR (grynas, cm⁻¹): $\nu_{N-H} = 3350$.

MS (ESI⁺): m/z (%): 338 ([M+H]⁺, 100).

HRMS (ESI⁺): [M+Na]⁺, C₁₄H₁₀BrClN₂NaO; apskaičiuota: 358,9544; nustatyta: 358,9557.

3,3'-(Fenilmetilen)di(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridinas) (1)



Į fenil(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)metanolio **10** (100 mg, 0,45 mmol) tirpalą metanolio (1,5 ml) ir vandens (1,5 ml) mišinyje suberiamas 7-azaindolas **2** (53,1 mg, 0,45 mmol) ir K₂CO₃ (416,7 mg, 3,02 mmol). Reakcija vykdoma mikrobangų reaktoriuje (50 W) 130 °C temperatūroje 30 min. Pasibaigus reakcijai, mišinys atvėsinaamas iki kambario temperatūros, vykdoma ekstrakcija etilacetatu(20 ml) ir praplaunama distiliuotu vandeniu (3 × 20 ml). Organinis sluoksnius surenkamas ir džiovinamas bevandeniu Na₂SO₄. Mišinys nufiltruojamas ir nugarinamas. Produktui išgryninti naudojamas kolonėlinės chromatografijos metodas. Naudojamas eliuentas dichlormetanas-metanolis, tūriniu santykiu nuo 100:3 iki 100:5.

R_f = 0,2 (EA-heksano mišinys tūriniu santykiu 1:1).

Išeiga: 28,1 mg (19,4 %), balti kristalai.

t_{lyd} = 134-135 °C

¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 5,87 (s, 1H), 6,92 (dd, *J* = 7,9 Hz, 4,7 Hz, 2H), 6,98 (d, *J* = 2,4 Hz, 2H), 7,2 (t, *J* = 7,3 Hz, 2H), 7,28 (t, *J* = 7,5 Hz, 2H), 7,37 (d, *J* = 7,5 Hz, 3H), 7,60 (dd, *J* = 8,0 Hz, 1,6 Hz, 2H), 11,43 (s, 2H).

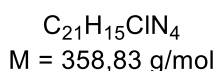
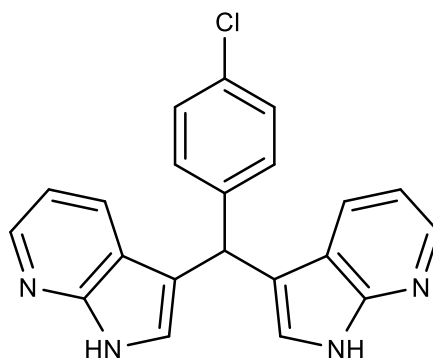
¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 59,7; 114,9(2 × C); 116,4(2 × C); 118,8(2 × C); 123,8(2 × C); 126,1; 127,2 (2 × C); 128,2 (4 × C); 142,5 (2 × C); 144,1; 148,9 (2 × C).

IR (grynas, cm⁻¹): ν_{N-H} = 3280.

MS (ESI⁺): *m/z* (%): 325 ([M+H]⁺, 100).

HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺, C₂₁H₁₇N₄; apskaičiuota: 325,1448; nustatyta: 325,1448.

3,3'-[(Chlorfenilfenil)metilen]di(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridinas) (6)



Į (4-chlorfenil)(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)metanolio **11** (100 mg, 0,39 mmol) tirpalą metanolio (1,5 ml) ir vandens (1,5 ml) mišinyje suberiamas 7-azaindolas **2** (46 mg, 0,39 mmol) ir K_2CO_3 (364,8 mg, 2,6 mmol). Reakcija vykdoma mikrobangų reaktoriuje (50 W) 130 °C temperatūroje 30 min. Pasibaigus reakcijai, mišinys atvėsinaamas iki kambario temperatūros, vykdoma ekstrakcija etilacetatu (20 ml) ir praplaunama distiliuotu vandeniu (3 × 20 ml). Organinis sluoksnis surenkamas ir džiovinamas bevandeniu Na_2SO_4 . Mišinys nufiltruojamas ir nugarinamas. Produktui išgryninti naudojamas kolonėlinės chromatografijos metodas. Naudojamas eliuentas dichlormetanas-metanolis, tūriniu santykiu nuo 100:3 iki 100:5.

$R_f = 0,3$ (EA-heksano mišinys tūriniu santykiu 1:1).

Išeiga: 50,3 mg (36,2 %), balti kristalai.

$t_{\text{lyd}} = 168\text{-}169 \text{ }^\circ\text{C}$

^1H BMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 6,41 (s, 1H), 7,45 (dd, $J = 7,9 \text{ Hz}, 4,7 \text{ Hz}, 2\text{H}$), 7,51 (d, $J = 2,4 \text{ Hz}, 2\text{H}$), 7,72 – 7,93 (m, 4H), 8,12 (dd, $J = 7,8 \text{ Hz}, 1,6 \text{ Hz}, 2\text{H}$), 8,69 (dd, $J = 4,7 \text{ Hz}, 1,5 \text{ Hz}, 2\text{H}$), 11,99 (s, 2H).

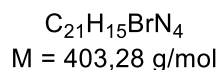
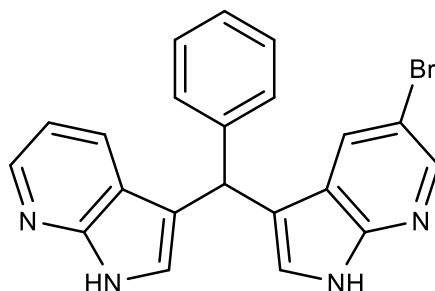
^{13}C BMR (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$): δ 59,8; 115,0 (2 × C); 116,0 (2 × C); 118,7 (2 × C); 123,9 (2 × C); 127,1 (2 × C); 128,2 (2 × C); 130,1 (2 × C); 130,6; 142,6 (2 × C); 143,1; 148,9 (2 × C).

IR (grynas, cm^{-1}): $\nu_{\text{N-H}} = 3298$.

MS (ESI⁺): m/z (%): 359 ($[\text{M}+\text{H}]^+$, 100).

HRMS (ESI⁺): $[\text{M}+\text{H}]^+$, $\text{C}_{21}\text{H}_{16}\text{ClN}_4$; apskaičiuota: 359,1058; nustatyta: 359,1058.

5-Brom-3-[fenil(1*H*-pirol[2,3-*b*]-piridin-3-il)metil]-1*H*-pirol[2,3-*b*]piridinas (19)



Į fenil(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)metanolio **10** (100 mg, 0,45 mmol) tirpalą metanolio (1,5 ml) ir vandens (1,5 ml) mišinyje suberiamas 5-brom-7-azaindolas **12** (88,7 mg, 0,45 mmol) ir K₂CO₃ (416,7 mg, 3,02 mmol). Reakcija vykdoma mikrobangų reaktoriuje (50 W) 130 °C temperatūroje 30 min. Pasibaigus reakcijai, mišinys atvėsina iki kambario temperatūros, ekstrahuojamas etilacetatu (20 ml) ir praplaunamas distiliuotu vandeniu (3 × 20 ml). Organinis sluoksnis surenkamas ir džiovinamas bevandeniu Na₂SO₄. Mišinys nufiltruojamas ir nugarinamas. Produktui išgryninti naudojamas kolonėlinės chromatografijos metodas. Naudojamas eliuentas dichlormetanas-metanolis, tūriniu santykiu nuo 100:3 iki 100:5.

R_f = 0,2 (EA-heksano mišinys tūriniu santykiu 1:1).

Išeiga: 85,5 mg (47,5 %), gelsvi kristalai.

t_{lyd} = 178-179 °C

¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 5,93 (s, 1H); 6,94 (dd, *J* = 7,9 Hz, 4,7 Hz, 2H); 7,01 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H); 7,10 (d, *J* = 2,4 Hz, 1H); 7,28 – 7,41 (m, 4H); 7,61 (dd, *J* = 7,9 Hz, 1,6 Hz, 1H); 7,85 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H); 8,17 (dd, *J* = 4,7 Hz, 1,5 Hz, 1H); 8,24 (d, *J* = 2,2 Hz, 1H); 11,48 (s, 1H); 11,76 (s, 1H).

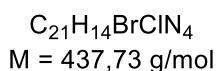
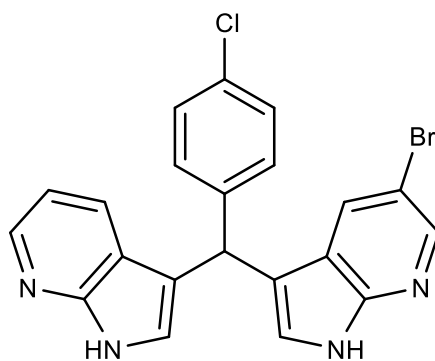
¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 38,5; 110,2; 115,0; 115,7; 115,9; 118,6; 120,5; 124,0; 126,0; 127,1; 128,3 (2 × C); 128,9; 130,0 (2 × C); 130,8; 142,6; 142,7; 142,8; 147,1; 148,9.

IR (grynas, cm⁻¹): ν_{N-H} = 3320.

MS (ESI⁺): *m/z* (%): 404 ([M+H]⁺, 100).

HRMS (ESI⁺): [M+H]⁺, C₂₁H₁₆BrN₄; apskaičiuota: 403,0553; nustatyta: 403,0553.

5-Brom-3-[(4-chlorfenil)(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)metil]-1*H*-pirol[2,3-*b*]piridinas (20)



Į (4-chlorfenil)(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)metanolio **11** (100 mg, 0,39 mmol) tirpalą matanolio (1,5 ml) ir vandens (1,5 ml) mišinyje suberiamas 5-brom-7-azaindolas **12** (76,8 mg, 0,39 mmol) ir K₂CO₃ (364,8 mg, 2,6 mmol). Reakcija vykdoma mikrobangų reaktoriuje (50 W) 130 °C temperatūroje 30 min. Pasibaigus reakcijai, mišinys atvėsinaamas iki kambario temperatūros, vykdoma ekstrakcija etilacetatu (20 ml) ir praplaunama distiliuotu vandeniu (3 × 20 ml). Organinis sluoksnis surenkamas ir džiovinamas bevandeniu Na₂SO₄. Mišinys nufiltruojamas ir nugarinamas. Produktui išgryninti naudojamas kolonėlinės chromatografijos metodas. Naudojamas eliuentas dichlormetanas-metanolis, tūriniu santykiu nuo 100:3 iki 100:5.

R_f = 0,2 (dichlormetano-metanolio mišinys tūriniu santykiu 100:3).

Išeiga: 105,4 mg (62,1 %), gelsvi kristalai.

t_{lyd} = 169-170 °C

¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆): δ 5,90 (s, 1H); 6,93 (dd, *J* = 7,9; 1,6; 1H); 7,00 (d, *J* = 2,4; 1H); 7,09 (d, *J* = 2,5; 1H); 7,29 (t, *J* = 7,5; 2H); 7,36 (d, *J* = 7,2; 2H); 7,61 (dd, *J* = 7,9; 1,6; 1H); 7,81 (d, *J* = 2,2; 1H); 8,17 (dd, *J* = 4,7; 1,5; 1H); 8,23 (d, *J* = 2,3; 1H); 11,46 (s, 1H); 11,73 (s, 1H).

¹³C BMR (101 MHz, DMSO-*d*₆): δ 59,8; 110,1; 114,9; 116,2; 116,4; 118,8; 120,7; 123,9; 125,9; 126,2; 127,2; 128,2 (2 × C); 128,3 (2 × C); 128,9; 142,4; 142,5; 143,8; 147,1; 148,8.

IR (grynas, cm⁻¹): ν_{N-H} = 3300.

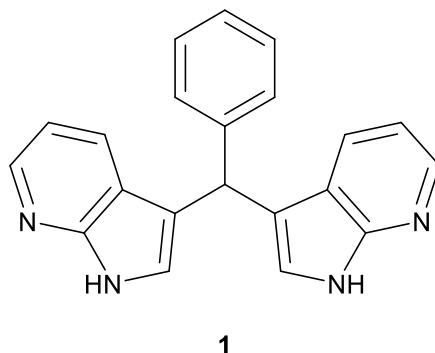
MS (ESI⁺): *m/z* (%): 438 ([M+H]⁺, 100).

HRMS (ESI⁺): [M+Na]⁺, C₂₁H₁₄BrClN₄Na; apskaičiuota: 458,9980; nustatyta: 458,9983.

3. Tyrimų rezultatai ir jų aptarimas

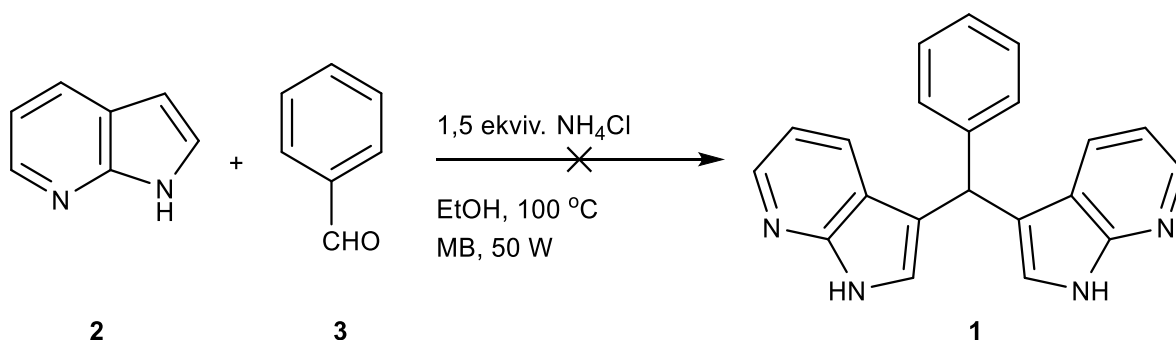
3.1. Indolo izosterų pakeitimas 3-ioje padėtyje

Remiantis baigiamajame bakalauro projekte atlikta įvairiai pakeistų bisindolų sintezės praktika ir siekiant toliau plėtoti šią tematiką, siekiama susintetinti įvairiai pakeistų bisindolų izosterus, sujungtus per C-3 anglies atomą (3.1 Pav.).



3.1 Pav. 3,3'-bisindolo izosterio pavyzdys

Siekiant susintetinti 3,3'-bisindolų izosterus pirmiausia buvo pabandyta pritaikyti sintezės metodą, naudotą 3,3'-bisindolų sintezei (3.2 Pav.). Atliekant bisindolų sintezę reakcijų sąlygos buvo optimizuotos. Šias sąlygas buvo bandyta pritaikyti ir kitiems 3,3'-bisindolo izosterams gauti. Taigi buvo bandyta atlikti sintezės reakcijas į reakcijos mišinį įdėjus 7-azaindolo **2**, aromatinio aldehido **3**, amonio chlorido, kaip tirpiklį naudojant sausą etanolį, reakciją vykdant mikrobangų reaktoriuje, 100 °C temperatūroje. Deja azaindolas **2** šiomis sąlygomis nesureagavo taip kaip paprastas indolas, net ir pailginus reakcijos trukmę nebuvo aptikta norimo reakcijos produkto.



3.2 Pav. Bandytas pritaikyti 3,3'-bisindolų sintezės sąlygas bisazaindolams gauti

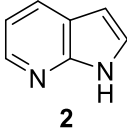
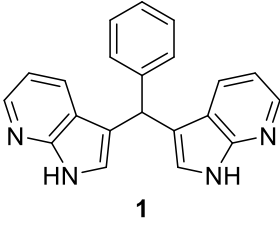
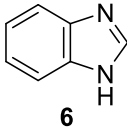
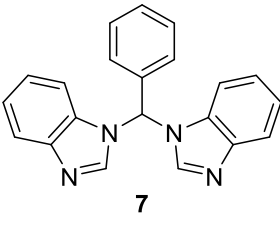
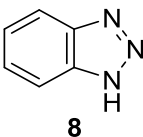
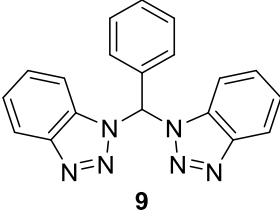
Šios reakcijos sąlygos taip pat buvo išbandytos ir su kitais bisindolo izosterais, bet nei vienas bandymas nebuvo sėkmingas – reakcijos mišinyje nerasta norimo produkto. Pradinės medžiagos, su kuriomis buvo išbandytos šios sąlygos, bei tiksliniai produktai, kuriuos buvo bandyta gauti, nurodyti 3.1 lentelėje.

3.1 lentelė. Bisindolo izosterai ir pradinės medžiagos jiems gauti

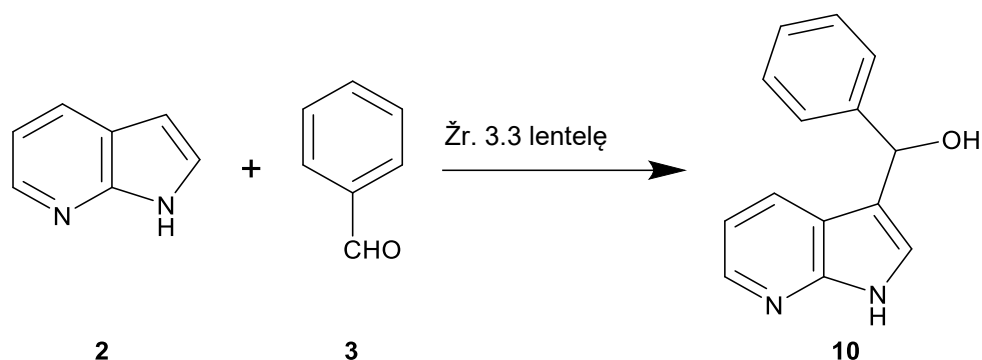
Nr.	Indolo izosteras	Aldehidas	Tikslinis produktas
1			
2			
3			
4			

Nepavykus pritaikyti 3.2 paveiksle pateiktų reakcijos sąlygų kitiems bisindolams sintetinti buvo ieškoma kito sintezės varianto. Mokslinėje literatūroje buvo rasta keletas analogiškų junginių sintezės pavyzdžių ir šių reakcijų sąlygos taip pat išbandytos su jau minėtais indolo izosterais. Išbandytos sintezių sąlygos ir naudoti indolo izosterai nurodyti 3.2 lentelėje [31-33]. Buvo bandyta jungti įvairius indolo izosterus su paprastu benzaldehidu **3**. Deja nei vienu atveju nebuvo gautas tikslinis produktas.

3.2 lentelė. Eksperimentinių reakcijų sąlygos bisindolo izosterams gauti

Nr.	Indolo izosteras	Priedai	Tirpiklis	Temperatūra, °C	Laikas, val.	Tikslinis produktas
1	 2	<i>p</i> -TSA	Toluenas	20	24	 1
2	 6	KOH	Toluenas	100	5	 7
3	 8	<i>p</i> -TSA	MeOH	20	24	 9

Tokiu atveju buvo pasirinktas kitas bisazaindolų sintezės kelias – iš pradžių prie aromatinio aldehido **3** prijungti vieną azaindolo **2** molekulę (3.3 pav.) ir tolimesnės reakcijos metu prijungti antrąją, suformuojant norimą bisazaindolą. Siekiant susintetinti tokį tarpinį produktą, buvo atlikta mokslinė literatūros analizė, atrinkt keletas pigių ir nesudėtingų prijungimo sintezės būdų, kurie minimaliai keičiant reakcijų sąlygas buvo pritaikyti šios prijungimo reakcijos optimizavimui (3.3 lentelė) [34]. Remiantis mokslinėje literatūroje rastomis analogiškų junginių sintezės sąlygomis, keletas variantų buvo išbandyta su minimaliais sąlygų pakeitimais – temperatūra, priedai, tirpikliai, reakcijos kaitinimas alyvos vonelėje arba mikrobangų reaktoriaus panaudojimas. Išbandžius keletą skirtingų variantų, nustatyta, kad daugiausiai produkto t.y. 76% išeiga susidaro reakciją vykdant metanolyje su kalio šarmu, kambario temperatūroje, 48 val. (3.3 lentelė, 4 eil.). Buvo išbandyta pakelti reakcijos temperatūra – nuo 20 iki 130 °C - arba perkelti reakciją į mikrobangų reaktorių ir taip pagreitinti reakcijos eigą, nedavė norimo produkto, galimai dėl to, kad junginys yra nestabilus ir skyla aukštesnėje temperatūroje. Gauto produkto struktūra buvo patvirtinta MS, HRMS, IR bei BMR metodais.

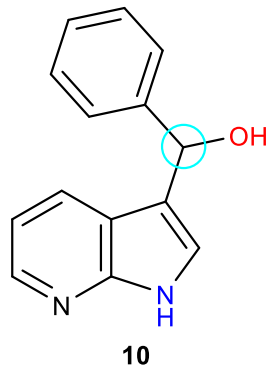


3.3 Pav. Aromatinio aldehido prijungimo prie azaindolo principinė schema

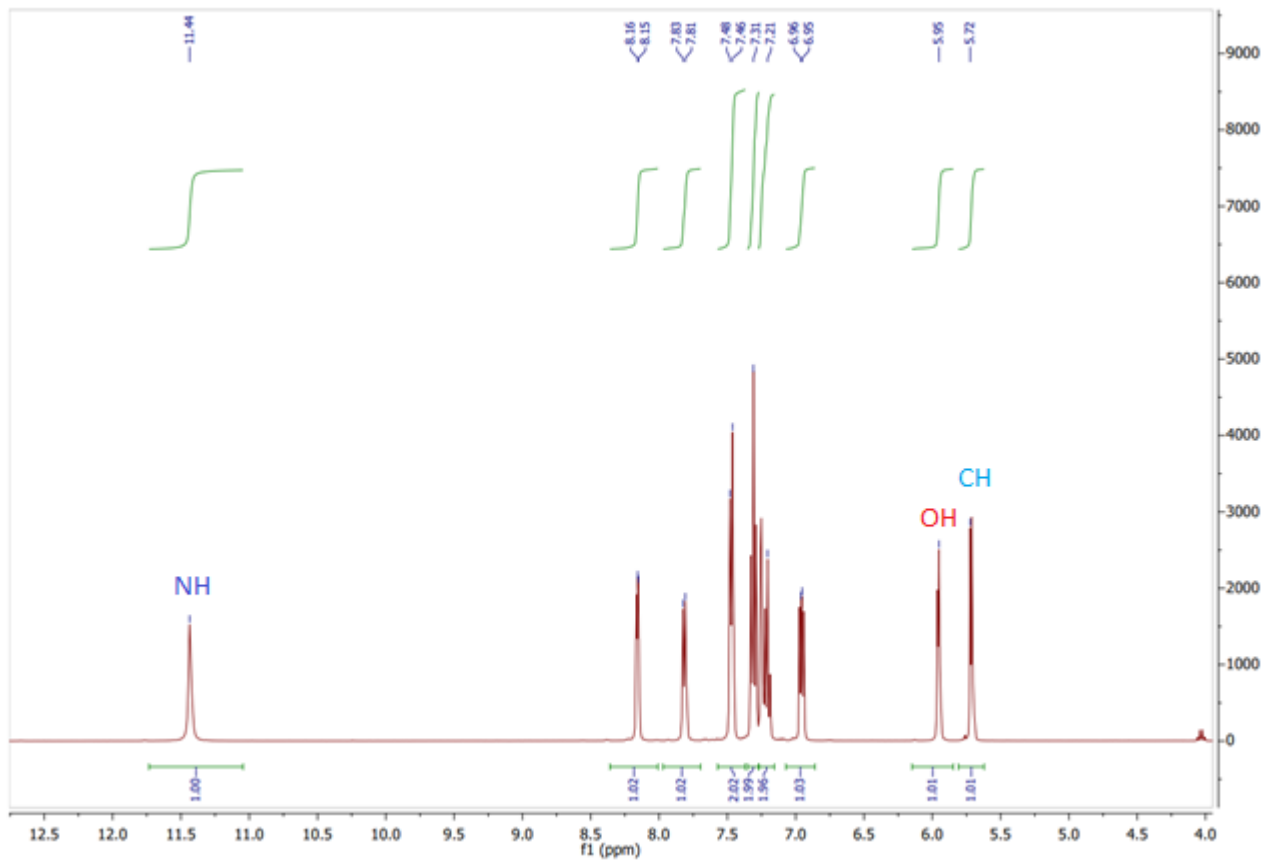
3.3 lentelė. Aldehido prijungimo prie azaindolo optimizavimas

Nr.	Priedai	Tirpiklis	Temperatūra	Trukmė	MB	Išeiga, %
1	6,7 ekviv. KOH	MeOH	55°C	48 val.	-	24
2	6,7 ekviv. K ₂ CO ₃	MeOH/H ₂ O	20 °C	48 val.	-	61
3	6,7 ekviv. K ₂ CO ₃	MeOH/H ₂ O	130 °C	30 min	+	-
4	6,7 ekviv. KOH	MeOH/H ₂ O	20 °C	48 val.	-	76

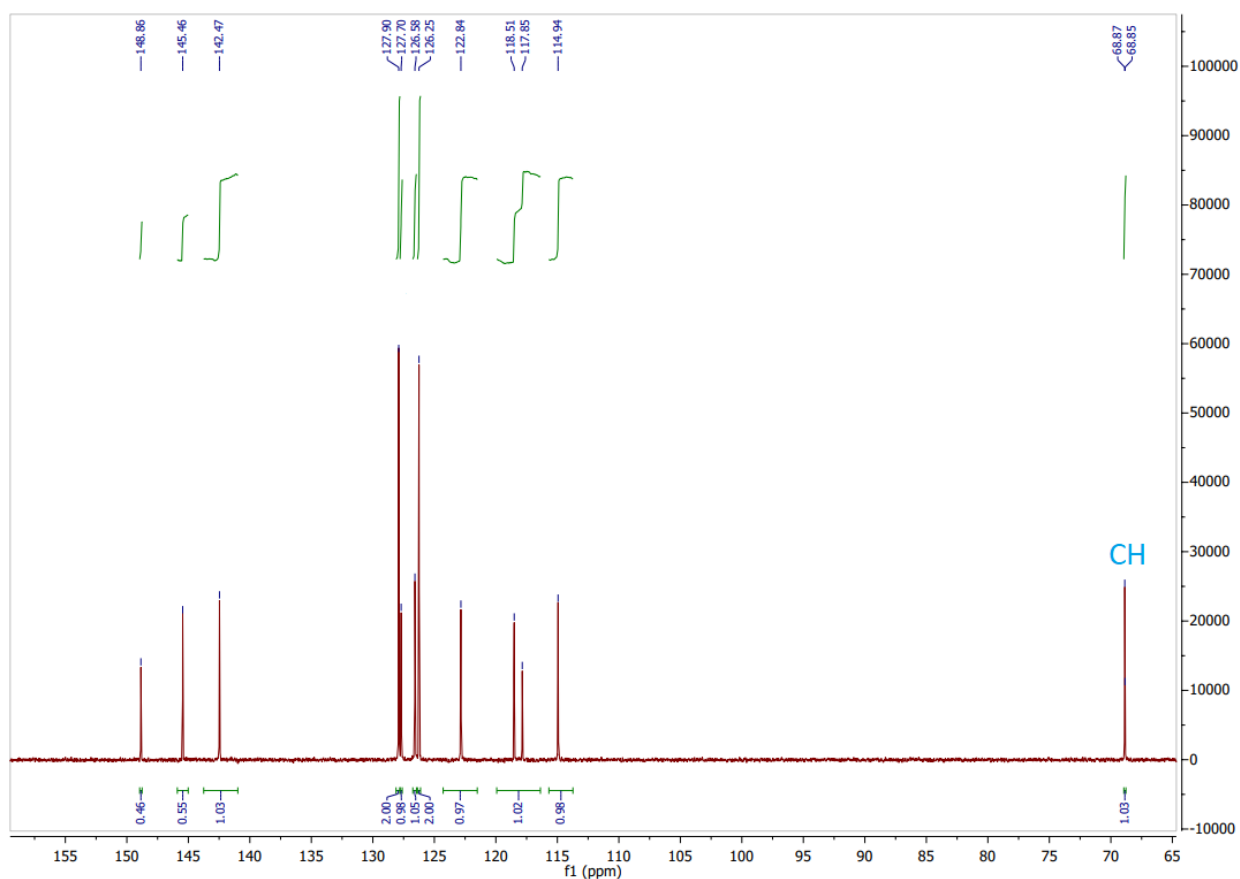
Azaindolo **10** struktūra buvo patvirtinta atlikus MS, BMR, IR bei HRMS spektrų analizę. Pagrindinis struktūros įrodymas yra BMR spektrų analizė. **3.4** Paveiksle matome fenil(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)metanolis **10** su paryškintomis grupėmis, kurios yra nustatytos ir įvardintos 3.5 paveiksle matomame BMR protoniniame spektre. ¹H BMR spektre ties 5,72 mln. d. matome CH grupės signalą (registruojamą kaip dubletą) esantį tarp benzeno ir azaindolo žiedų. Toliau, šalia esantis signalas ties 5,95 mln. d. priklauso OH grupei, kuri jungiasi su prieš tai minėta CH grupe. Atkarpoje nuo 6,95 iki 8,16 mln. d. matome daug signalų, kurie priklauso aromatiniams vandenilio atomams, t.y. benzeno ir azaindolo žiedams. Paskutinis signalas – platus singletas esantis 11,41 iki 11,47 mln. d. registruoja NH grupę, esančią azaindolo žiede. Funkcines NH bei OH grupes junginyje taip pat patvirtina IR spektras, kuriame yra dvi intensyvios absorbcijos juostos su atitinkamais maksimumais - 3524 cm⁻¹ (NH grupė) bei 3219 cm⁻¹ (OH grupė). Iš ¹³C BMR spektro (3.6 Pav.) taip pat galime aiškiai matyti, kad analizuojamoje struktūroje yra tik vienas CH anglies atomas, nepriklausantis aromatiniam žiedams, kurį registruoja smailė esanti ties 68,86 mln. d.. Visi kiti junginio signalai yra už 100 mln. d. ribos ir yra atkarpoje nuo 114,94 iki 148,86 mln. d.. Iš to galime daryti išvadą, kad šie signalai registruoja aromatinių žiedų – benzeno ir azaindolo – anglies atomus.



3.4 Pav. Fenil(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)metanolis **10**



3.5 Pav. Fenil(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)metanolio **10** ¹H BMR (400 MHz, DMSO-*d*₆) spektras



3.6 Pav. Fenil(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)metanolio **10** ^{13}C BMR (101 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) spektras

Atradus sąlygas, kuriomis prie indolo izostero azaindolo buvo prijungta viena aldehido molekulė ir patvirtinus gauto junginio struktūrą detalioje spektrinėje analize, buvo nuspręsta projektą toliau vykdyti šiuo keliu. Prieš tai pateiktos pirmos stadijos sintezės sąlygos buvo panaudotos siekiant gauti kelis kitus analogiškus junginius – tiksliniai šios stadijos produktai ir pradinės medžiagos jiems gauti pateikiamos 3.4 lentelėje. Susintetintų junginių struktūros įrodytos analogiškai kaip ir jau minėto fenil(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridin-3-il)metanolio **10**.

3.4 lentelė. Pirmos stadijos produktai ir jų išeigos

Nr.	Azaindolas	Aldehidas	Tikslinis produktas	Išeiga, %
1				76
2				43
3				39
4				27

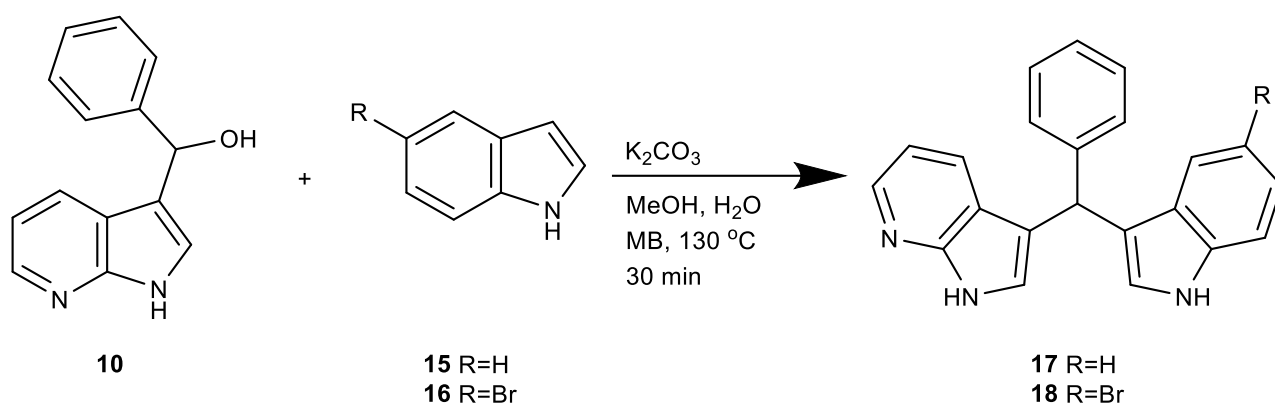
Kaip matome šios stadijos išeigų skirtumas yra ganėtinai nemažas, t.y. nuo 27% iki 76%. Be to pastebima, kad brominti azaindoliai **12** šioje stadijoje reaguoja sunkiau – tikslinio produkto išeigos yra mažesnės nei reakcijose su paprastu 7-azaindolu. Dėl to sekančios stadijos metu dėl praktinių sumetimų, sintetinant nesimetrinius bisazaindolus, sintezei kaip pradinė medžiaga buvo naudojami tarpiniai junginiai su nepakeistu 7-azaindolu.

Žinant tikslinių produktų struktūras ir jų išeigas pateiktas 3.4 lentelėje, galima matyti, kad junginių, turinčių chloro ar bromo pakaitų, išeigos yra gerokai mažesnės nei junginio **10**. Ši išeigos priklausomybė atsiranda dėl pakaitų elektronų donorinių-akceptorinių savybių. Galima daryti išvadą, kad daugėjant elektronų akceptorinių pakaitų ant benzaldehido arba azaindolo žiedų tikslinio produkto išeiga mažėja. Aromatiniai žiedai yra mažiau linkę dalyvauti prisijungimo reakcijose, kai juose yra elektronų akceptorinių pakaitų.

Šio projekto metu buvo nuspręsta sintetinti naujus junginius, kurie dar nebuvo ištirti ir aprašyti. Pagal šį kriterijų buvo atrinkti įvairūs bisazaindolo dariniai ir tikslingai sintetinami.

3.2. Bis-7-azaindolų sintezė

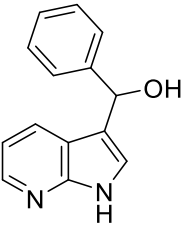
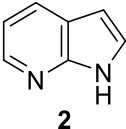
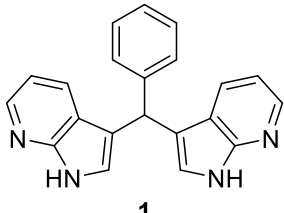
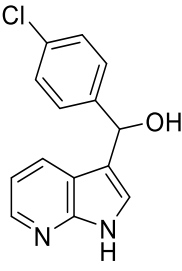
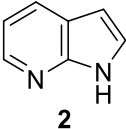
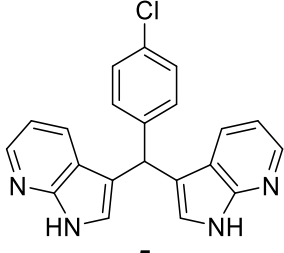
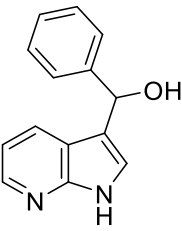
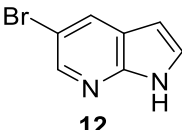
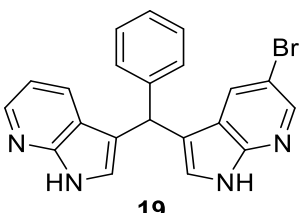
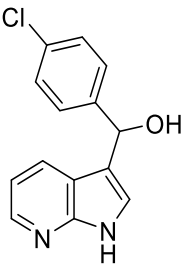
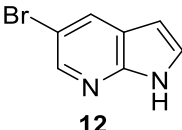
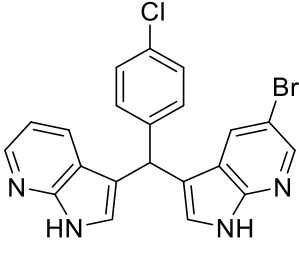
Iš fenil (1*H*-pirolo[2,3-*b*]piridin-3-il)metanolio **10** ir (4-chlorfenil)1*H*-pirolo[2,3-*b*]piridin-3-il)metanolio **11** toliau sekančios reakcijos metu buvo bandoma gauti bisindolo izosterus. Norint pasiekti šį tikslą, buvo pasinaudota mokslinėje literatūroje pateiktomis analogiškoms sintezės reakcijų sąlygomis (3.7 Pav.) [34]. Pabandyti prie jau turimo tarpinio produkto buvo jungiami paprastas indolas **15** bei 5-bromindolas **16**. Reakcijos buvo vykdomos metanolio ir vandens mišinyje, pridėjus kalio karbonato, reakcijas vykdant mikrobangų reaktoriuje, 130 °C temperatūroje, 30 min. Pabaigus vykdyti reakciją, susidarė keletas produktų, tarp kurių buvo ir mūsų tiksliniai produktai **17** ir **18** junginiai.



3.7 Pav. Bisindolo izosterų sintezės schema

Išbandžius reakcijos sąlygas bis-7-azaindolų sintezei buvo pradėti sintetinti tiksliniai produktai, kurių dar nėra mokslinėse duomenų bazėse arba su kuriais dar nebuvo atliekami biologiniai tyrimai. Pagal šiuos kriterijus buvo atrinkta keletas tokių bis-7-azaindolų ir jie sėkmingai susintetinti pagal jau minėtas reakcijos sąlygas. Susintetinti bisazaindolo dariniai ir jų išėigos pateikiami 3.5 lentelėje.

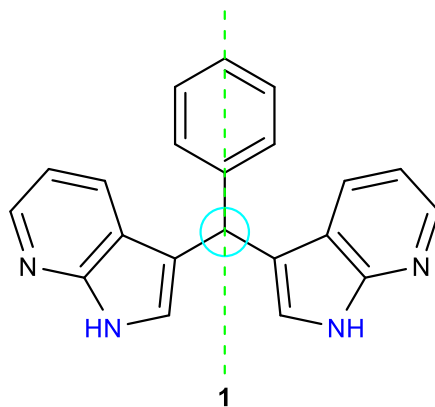
3.5 lentelė. Bis-7-azaindolai ir jų išeigos

Nr.	Pradinis junginys	Azaindolas	Tikslinis produktas	Išeiga, %
1				19
2				36
3				48
4				62

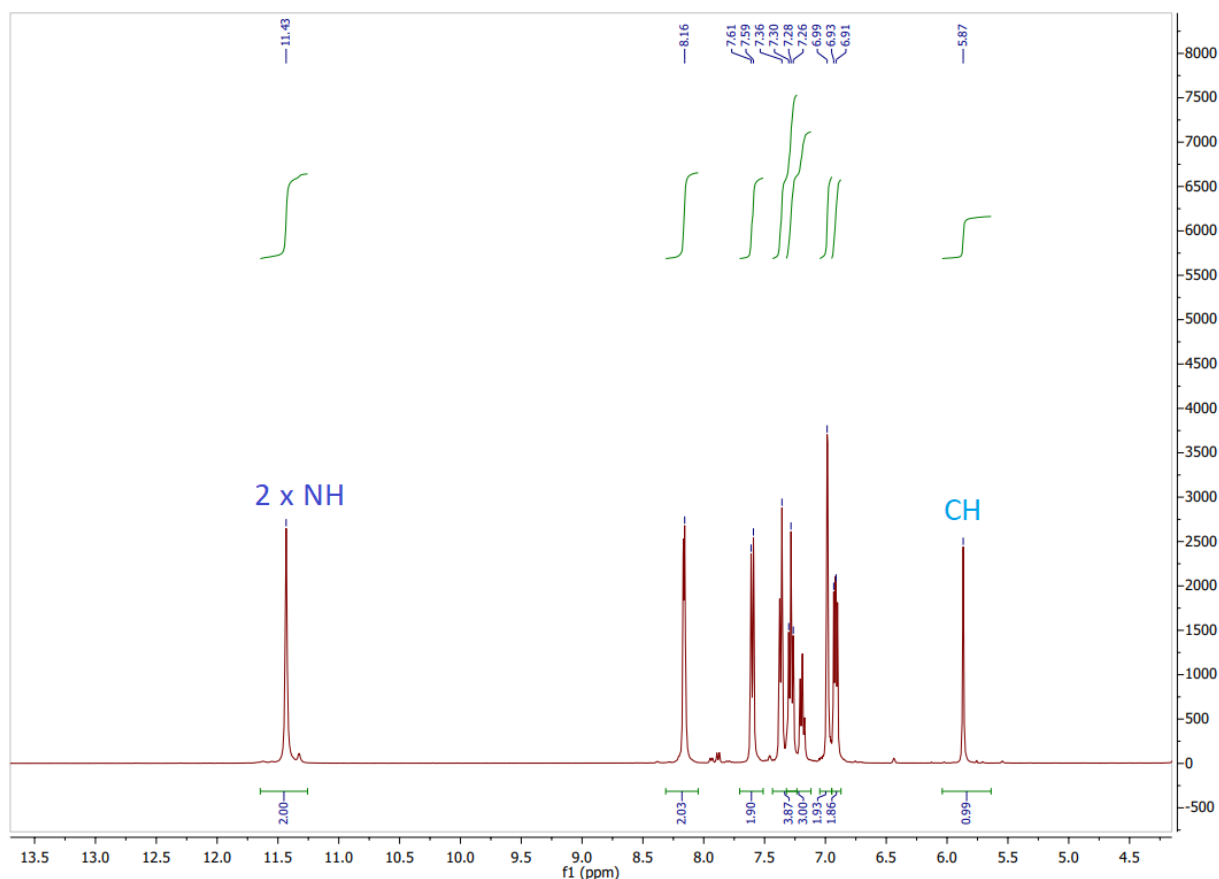
Atlikus bis-7-azaindolų sintezę matome, kad junginių išeigos yra labai įvairios – nuo ganėtinai mažos 19,4% išeigos iki palyginus didelės 62,1% išeigos. Be to, matome, kad nesimetriški 7-azaindolai yra linkę geriau reaguoti nei simetriniai ir lengviau sudaro bisazaindolos.

Antros stadijos metu gautų junginių struktūros buvo įrodytos tais pačiais MS, BMR, IR bei HRMS metodais. Kaip pavyzdys toliau bus detalai išanalizuota pora junginių – pirmiausiai, 3,3'-(fenilmetilen)di(1*H*-pirol[2,3-*b*]piridina) **1**, kurio struktūra pateikta 3.8 paveiksle. Paveiksle pažymėtos pagrindinės grupės, pagal kurias buvo įrodyta junginio struktūra. Be to šis junginys yra simetriškas – jo simetriškumą vaizduoja punktyrinė linija. Analizuojant spektrus reikia nepamiršti šios junginio struktūros ypatybės. Analizuojant ¹H BMR spektrą matome smailę ties 5,87 mln. d., kuri registruoja alifatinę CH grupę, besijungiančią su dviem azaindolo ir vienu benzeno žiedu. Toliau smailės, esančios nuo 6,91 iki 8,16 mln. d. registruoja junginio CH grupės vandenilius, priklausančius

aromatinei daliai. Čia azaindolo žiede esantys vandeniliniai bei benzeno žiede orta- ir meta- padėtyse esantys vandenilio atomai duoda vieną ir tą patį, o ne atskirus signalus dėl molekulos simetriškumo. Toliau, ties 11,43 mln. d. matome smailę, kuri registruoja dvi azaindolų žiedų NH grupes, analogiškai kaip ir aromatinės CH grupės. Smailės, kurios registruoja du identiškus atomus, gali būti identifikuojamos pagal jų integravimą. Azoto grupės esančio junginyje taip pat buvo identifikuotos ir atliekant IR spektro analizę.



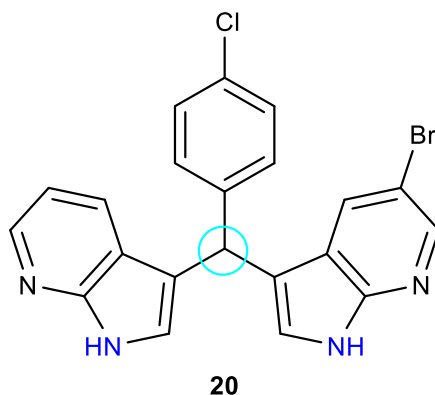
3.8 Pav. 3,3'-(Fenilmetilen)di(1H-pirol[2,3-b]piridinas) **1**



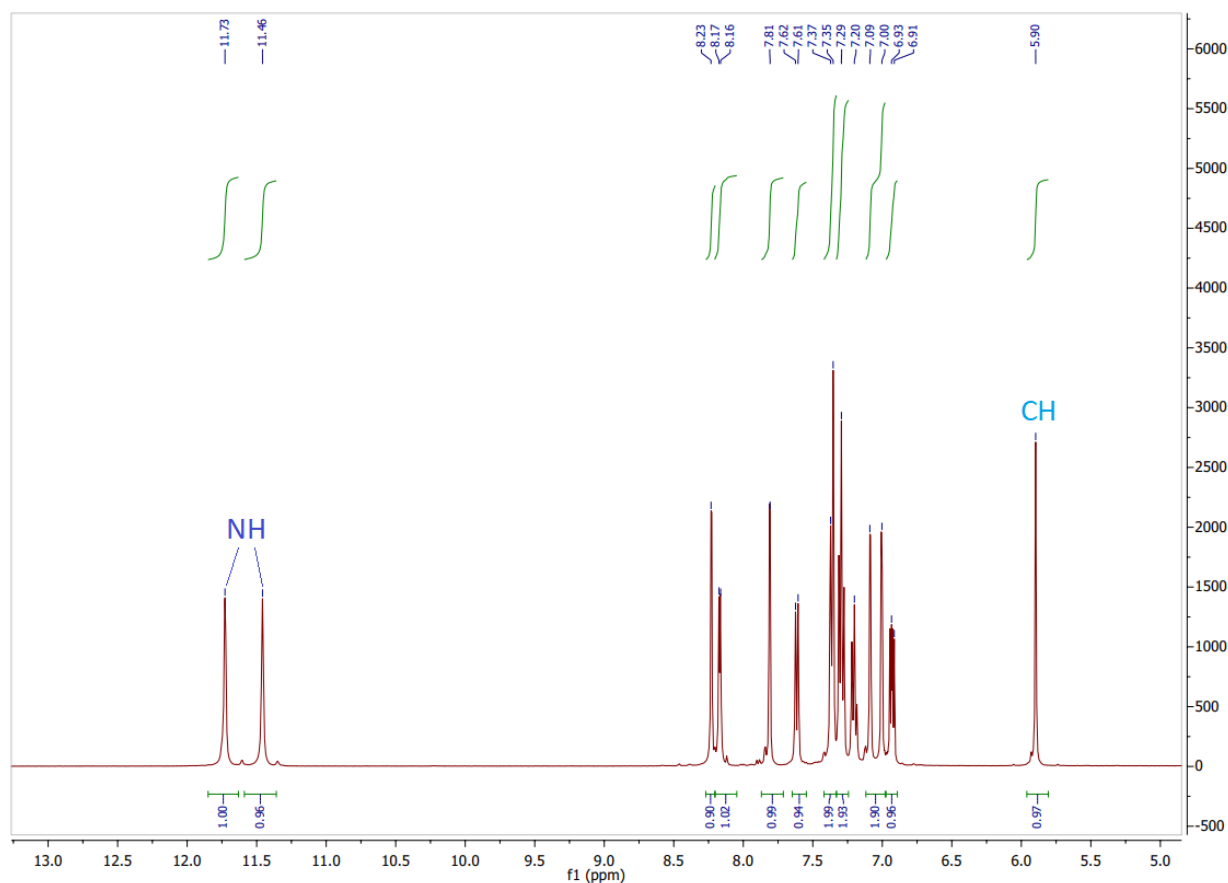
3.9 Pav. 3,3'-(Fenilmetilen)di(1H-pirol[2,3-b]piridino) **1** ^1H BMR (400 MHz, $\text{DMSO-}d_6$) spektras

Atlikdami nesimetrinio bisazaindolo, pavyzdžiui, 5-brom-3-((4-chlorfenil)(7-azaindol)metil)-7-azaindolo **20**, struktūros analizę galima pastebėti aiškų skirtumą branduolių magnetinio rezonanso spektre lyginant su simetriniu bisazaindolu. Analizuojamo junginio struktūrą ir jo funkcines grupes

matome 3.10 paveiksle. Pagrindinis skirtumas bisazaindolo **20** ^1H BMR spektre (3.11 pav.) nuo prieš tai analizuoto simetriško azaindolo **1** yra tas, kad šiame spektre matomos dvi smailes ties 11,46 ir 11,73 mln. d., kurios registruoja dvi NH grupes, tik šiame atvejuje smailes nesutampa, nes junginys nėra simetriškas, dėl to skiriasi abiejų grupių poslinkiai.



3.10 Pav. 5-Brom-3-[(4-chlorfenil)(1H-pirol[2,3-b]piridin-3-il)metil]-1H-pirol[2,3-b]piridinas **20**

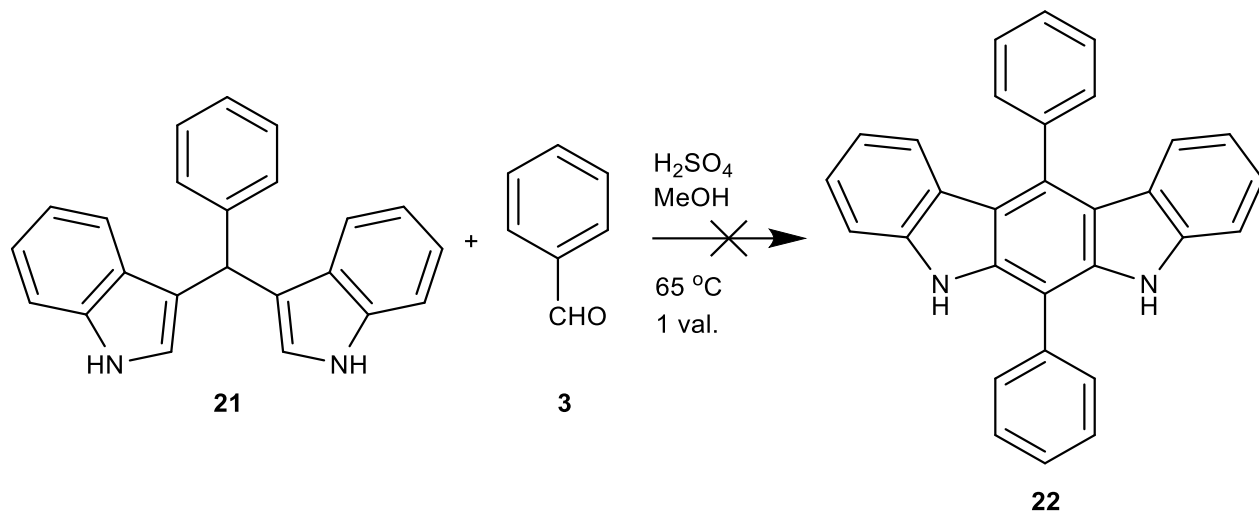


3.11 Pav. 5-Brom-3-[(4-chlorfenil)(1H-pirol[2,3-b]piridin-3-il)metil]-1H-pirol[2,3-b]piridino **20** ^1H BMR (400 MHz, $\text{DMSO}-d_6$) spektras

3.3. Aromatinio aldehido prijungimas prie bisindolo ir jo izostero

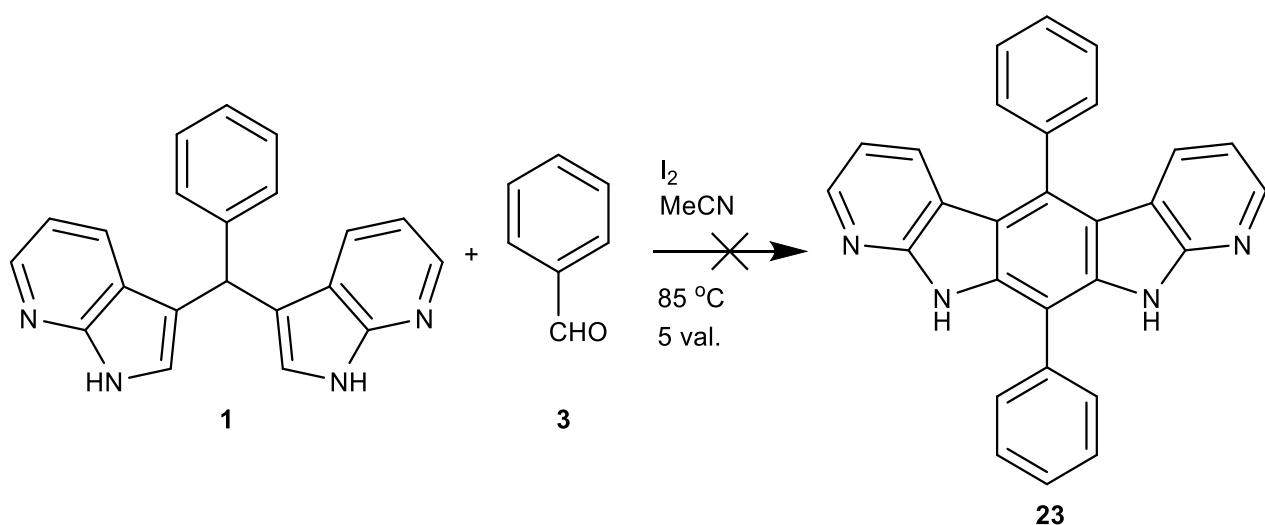
Siekiant toliau pratęsti baigiamajame bakalauro projekte atlikta darbą prie jau anksčiau susintetintų bisindolų pabandyta prijungti antrąjį benzaldehidą. Išanalizavus straipsnius buvo rastos analogiškų

junginių sintezės sąlygos ir jos pabandytos pritaikyti bisindolo junginiams (3.12 Pav.) [35]. Remiantis literatūra, tokio tipo reakcijos gali būti atliekamos metanolyje su koncentruotos sieros rūgšties pagalba, reakciją atliekant mikrobangų reaktoriuje, 65 °C temperatūroje, reakciją vykdant 1 valandą laiko. Pasibaigus reakcijai susidarė daug pašalinių produktų, bet nei vienas jų nebuvo tikslinis produktas, kurį buvo siekta gauti.



3.12 Pav. Bandytas prijungti aromatinį aldehydą prie bisindolo **21**

Nepavykus šiai reakcijai buvo išbandytas kitas variantas. Pagal literatūroje rastas analogiškų reakcijų sąlygas buvo pabandyta prijungti antrąjį aldehydą prie bisazaindolo (3.13 Pav.). Šiai reakcijai vykdyti kaip katalizatorius buvo panaudotas elementinis jodas, o reakcija atliekama toluene, naudojant įprasta kaitinimą alyvos vonelėje, tirpiklio, tai yra tolueno virimo temperatūroje. Nors mokslinėje literatūroje nurodyta, kad analogiškos reakcijos vyksta nuo 5 iki 45 min, tačiau šiuo atveju reakciją nutraukus net ir po 5 val., reakcijos mišinyje buvo aptikta tik pašalinių produktų [36]. Analogišką reakciją buvo pabandyta atlikti ir su bis-7-azaindolu turinčiu chloro pakaitą benzeno žiede, tačiau ir šiuo atveju reakcija neįvyko.



3.13 Pav. Bandytas prijungti aromatinį aldehydą prie bis-7-azaindolo **1**

3.4. Bis-7-azaindolų biologinio aktyvumo tyrimai

Remiantis išsamia mokslinės literatūros analize apie įvairių indolų izosterų biologinį aktyvumą, pritaikymą medicininėje chemijoje ir ypatingą farmakologiniu aktyvumu pasižyminčią struktūrą būtų tikslinga ateityje atlikti šių naujų susintetintų junginių biologinio aktyvumo tyrimus ir detalią jų analizę. Manoma, kad šie junginiai turėtų pasižymėti prieš kirmėliniu aktyvumu – atliekant baigiamąjį bakalauro projektą jau buvo atlikta įvairiai pakeistų 3,3'-bisindolų sintezė ir savybių tyrimas, kurio metu buvo tiriamas junginių poveikis *Caenorhabditis elegans* reprodukciniams procesams. Įvairūs bisindolai pasižymėjo nežymiu prieš kirmėliniu aktyvumu. Kadangi azaindolas turi ypatingą farmakoforo struktūrą tai yra jis linkęs jungtis prie daugybės įvairių baltymų kinazių ir veikia kaip tokių kinazių inhibitorius, manoma, kad 3,3'-bis-7-azaindolai turėtų pasižymėti stipresniu prieš kirmėliniu aktyvumu, nei analogiški 3,3'-bisindolai.

Išvados

1. Indolo izosterai ir jų dariniai yra potencialūs kandidatai tapti vaistais nuo įvairių ligų, kadangi jų struktūra turi didelį giminingumą įvairių kinazių baltymams, dėl kurio šiems junginiams yra būdingas biologinis aktyvumas. Dauguma jų pasižymi antivirusinėmis, priešuždegiminėmis, priešvėžinėmis, prieš kirmėlinėmis, antioksidacinėmis, įvairių kinazių slopinamosiomis ir kitomis savybėmis.
2. Aromatiniai aldehydai efektyviau jungiasi prie azaindolo 3-ioje jo žiedo padėtyje, į reakcijos mišinį įdėjus KOH, o ne K_2CO_3 ir priklausomai nuo reaguojančių aldehydų išeigos gali siekti net iki 76%. Išeiga stipriai priklauso nuo reaguojančių junginių pakaitų aromatinuose žieduose – išeiga mažėja daugėjant pakaitų, kurie pasižymi elektronų akceptorinėmis savybėmis.
3. 3,3'-Bis-7-azaindolų sintezė gali būti atliekama mikrobangų reaktoriuje, o jų išeiga siekia nuo 19% iki 62%. Jų išeiga priklauso nuo bis-7-azaindolams sintetinti naudojamų azaindolų – nesimetriniai azaindoliai yra labiau linkę reaguoti sudaryti bisazaindolus, nei simetriniai jų analogai.

Literatūros sąrašas

1. MOTATI, D. and GANESH T. Azaindole therapeutic agents. *Bioorganic Med. Chem.* 2020, 28 (24), 324-331.
2. BASUKI K. Benzotriazole: a heterocyclic molecule with diversified pharmacological activities. *Online Int. Nas.* 2019, 7 (1), 168-1699. ISSN 2502-3632.
3. LAW C. and YEONG K. Benzimidazoles in drug discovery: a patent review. *ChemMedChem.* 2021, 16, 1–18.
4. KANNABOINA P., MONDAL K., LAHA J. and DAS, P. Recent advances in the global ring functionalization of 7-azaindoles. *Chemical Communications.* 2020, 79, 11749-11762.
5. DEEPAK K. et al. Review on: benzimidazole derivatives as potent biological agent. *J. Curr. Pharma Res.* 2018, 9 (1), 2676–2694. 2018.
6. HAGHIGHAT M., SHIRINI F. and GOLSHEKAN M. Periodic mesoporous organosilica containing bridges with N-sulfonic acid groups: a new catalyst for the efficient formylation of amines and alcohols. *Silicon.* 2020, 12 (9), 2087–2098.
7. FRESNEDA P., DELGADO S., MANZANARES I., CUEVAS C. and MOLINA P. Synthesis and cytotoxic evaluation of new derivatives of the marine alkaloid variolin B. 2006, 49 (3), 1217–1221.
8. KRITSANIDA M., MAGIATIS P. et al. Synthesis and antiproliferative activity of 7-azaindirubin-3'-oxime, a 7-aza isostere of the natural indirubin pharmacophore. 2009, 72 (12), 2199–2202.
9. KUO G. et al. Synthesis and discovery of macrocyclic polyoxygenated bis-7-azaindolylnmaleimides as a novel series of potent and highly selective glycogen synthase kinase-3 β inhibitors. *J. Med. Chem.* 2003, 46 (19), 4021–4031.
10. GÜRBÜZ P. et al. In vitro biological activity of salvia fruticosa mill. infusion against amyloid B-peptide-induced toxicity and inhibition of GSK-3 β , CK-1 δ , and BACE-1 enzymes relevant to alzheimer's disease. *Saudi Pharm. J.* 2021, 29 (3) 236–243.
11. SCHNIEDERS M., KAOUUD T. et al. Computational insights for the discovery of non-ATP competitive inhibitors of MAP kinases. *Curr. Drug Metab.* 2012, 18 (9) 1173–1185.
12. LECHNER C. et al. [b]-Annulated halogen-substituted indoles as potential DYRK1A inhibitors. 2019, 24(22), 1–19.
13. QHOBOSHEANE M., LEGOABE L., JOSSELIN B. et al. Synthesis and evaluation of C3 substituted chalcone-based derivatives of 7-azaindole as protein kinase inhibitors. *Chem. Biol. Drug Des.* 2020, 96 (6), 1395–1407.
14. SOLYAKOV L. et al. Global kinomic and phospho-proteomic analyses of the human malaria parasite Plasmodium falciparum. *Nat. Commun.* 2011, 2 (1).
15. MAHINDRA A. et al. Development of potent PfCLK3 inhibitors Based on TCMD-135051 as a new class of antimalarials. *J. Med. Chem.* 2020, 63 (17), 9300–9315.
16. Guzelj S. et al. Structural features and functional activities of benzimidazoles as NOD2 antagonists. *Eur. J. Med. Chem.* 2020, 190, 1–15.
17. SABERI A. Effects of benzimidazole derivatives on digestive system and cardiovascular system. 2012, 1 (4), 99–107.
18. CHOUDHARY S., ARORA M., VERMA H. et al. Benzimidazole based hybrids against complex diseases: a catalogue of the SAR profile. *Eur. J. Pharmacol.* 2021, 89 (9).

19. ELHEFNAWI M. and EL-AZZOUNY A. Evaluation of antioxidant, analgesic and anti-inflammatory activity of 2- based Schiff bases. *J. Pharm.* 2020, 10 (10), 48–56.
20. CORONA P. et al. Antiviral activity of benzotriazole based derivatives. *Open Med. Chem. J.* 2020, 14 (1) 83–98.
21. SINGH V., BHARADWAJ P. and RISHISHWAR P. Synthesis and anxiolytic activity of some novel benzotriazole derivatives. *J. Drug Deliv. Ther.* 2019, 9 (4), 98–103.
22. ALRAQA S., ALHARBI K., ALJUHANI A., REZKI N., AOUAD M. and ALI I. Design, click conventional and microwave syntheses, DNA binding, docking and anticancer studies of benzotriazole-1,2,3-triazole molecular hybrids with different pharmacophores. *J. Mol. Struct.* 2021, 25 (12), 129-142.
23. PILLAIYAR T. et al. Diindolylmethane derivatives: potent agonists of the immunostimulatory orphan G protein-coupled receptor GPR84. *J. Med. Chem.* 2017, 60 (9), 3636–3655.
24. DEACON G., JUNK P. and LEARY S. Unexpected formation of bis(1H-7-azaindol-3-yl)(2,4,5-trimethylphenyl) methane by erbium metal-induced C-H activation. *Adv. Synth. Catal.* 2003, 34 (9), 1115–1117.
25. QIANG W., LIU X. and LOH T. Supported iridium catalyst for the green synthesis of 3,3'-bis(indolyl)methanes using methanol as the bridging methylene source. *ACS Sustain. Chem. Eng.* 2019, 7 (9), 8429–8439.
26. SUN C. et al. Direct use of methanol as an alternative to formaldehyde for the synthesis of 3, 3'-bisindolylmethanes (3, 3'-BIMs). *Chem. - A Eur. J.* 2013, 19 (42), 14030–14033.
27. TANSKY M., GU Z. and COMITO R. Metal-free, mild, and selective synthesis of bis(pyrazolyl)alkanes by nucleophile-catalyzed condensation. *J. Org. Chem.* 2014, 86 (2), 1601–1611.
28. AHMED N. SHIRINFAR B. et al. Selective detection of guanosine-5'-triphosphate and iodide by fluorescent benzimidazolium-based cyclophanes. *Org. Biomol. Chem.* 2013, 11 (37), 6407–6413.
29. LUPSOR S. et al. Rapid synthesis of azole amins under microwave heating conditions *Rev. Chim.* 2010, 61 (3), 333–335.
30. LI Y. et al. Metal-free cross-dehydrogenative C–N coupling of azoles with xanthenes and related activated arylmethylenes. *Synth. Commun.* 2019, 49 (19), 2053–2065.
31. ZHONG Z., HONG R. and WANG X. Construction of 3-aryl-1,2,4-benzotriazines via unprecedented rearrangement of bis(benzotriazol-1-yl)methylarenes. *Tetrahedron Lett.* 2010, 51 (11), 6763–6766.
32. VERMA A. JHA, R. et al. “2-(1-Benzotriazolyl)pyridine: a robust bidentate ligand for the palladium-catalyzed C-C (Suzuki, Heck, Fujiwara-Moritani, Sonogashira), C-N and C-S coupling reactions. *Adv. Synth. Catal.* 2013, 355 (2–3), 421–438.
33. PASHA M. and JAYASHANKA V. “p-Toluenesulfonic acid (p-TSA) catalyzed efficient synthesis of bis(indolyl)methanes under grindstone method. *Journal of Pharmacology and Toxicology.* 2006, 1, (6), 585–590.
34. UDDIN I. et al. Microwave-assisted one-pot reaction of 7-azaindoles and aldehydes: a facile route to novel di-7-azaindolylmethanes. *Tetrahedron Lett.* 2014, 55 (1) 169–173.
35. EL SAYED M., AHMED K., MAHMOUD K. and HILGEROTH A. Synthesis, cytostatic evaluation and structure activity relationships of novel bis-indolylmethanes and their corresponding tetrahydroindolocarbazoles. *Eur. J. Med. Chem.* 2015, 90 845–859.

36. DEB M. BARUAH B. and BHUYAN P. A facile synthesis of 6,12-disubstituted 5,7-dihydroindolo[2,3-b] carbazoles from the reaction of 1H-indole and aldehydes catalyzed by molecular iodine. *Synthesis (Stuttg)*. 2008, 2, 286–292.

Publikacijų sąrašas

Mokslinių tyrimų rezultatų skelbimas konferencijose

1. Valikonytė, M., Solovjova J. „Įvairiai pakeistų bisindolo bei jo izosterų darinių sintezės ir savybių tyrimas“ (2021) // Studentų mokslinė konferencija 2021