

Производные 3-гидроксихиназолина, аналоги эрастина, индуцируют ферроптоз в клетках карциномы молочной железы. Дополнительный материал

Л.М. Борисова, В.Н. Осипов, И.С. Голубева, М.П. Киселева, Д.А. Хоченков, А.А. Варганян

ФГБУ «Национальный медицинский исследовательский центр онкологии им. Н.Н. Блохина» Минздрава России; Россия, 115478 Москва, Каширское шоссе, 24

3-Hydroxyquinazoline derivatives, analogues of erastin, induced ferroptosis in breast cancer cells Additional material

L.M. Borisova, V.N. Osipov, I.S. Golubeva, M.P. Kiseleva, D.A. Khochenkov, A.A. Vartanian

N.N. Blokhin National Medical Research Center of Oncology, Ministry of Health of Russia; 24 Kashirskoe Shosse, Moscow 115478, Russia

ОБЩАЯ ИНФОРМАЦИЯ

Все реактивы были получены от Acros Organics (США), ABCR (Германия), Sigma-Aldrich (США) и использовались без дополнительной очистки. Спектры ядерного магнитного резонанса (ЯМР) регистрировали на Фурье ЯМР-спектрометре Bruker AVANCE III NanoBay (Германия) при 300 МГц в режиме стабилизации по дейтерию (термостабилизация – 25 °С, внутренний стандарт – тетраметилсилан) в диметилсульфоксиде- d_6 (ДМСО- d_6). Химические сдвиги приведены в миллионных долях (δ), константы спин-спинового взаимодействия – в герцах.

Аналитическую высокоэффективную жидкостную хроматографию проводили на хроматографической системе Agilent LC/MS 1200 с использованием колонки Reprosil-Pur Basic C18 (5 мкм) размером 4,6 × 240 мм. Подвижная фаза: буфер А – 0,1 %-ный раствор трифторуксусной кислоты (TFA) в воде, буфер Б – 0,1 % TFA в ацетонитриле, элюирование градиентом концентрации буфера Б в буфере А от 5 до 100 % за 20 мин; скорость потока 1 мл/мин, детекция при 220 нм. Масс-спектры с ионизацией электроспреем (ESI–MS) получали на масс-детекторе Agilent Ion Trap 6310. Температуру плавления определяли в открытом капилляре на анализаторе температуры плавления Mettler Toledo MP 90.

СИНТЕЗ ПРОИЗВОДНЫХ 3-ГИДРОКСИХИНАЗОЛИНА (СОЕДИНЕНИЯ 1–5)

Целевые соединения 1–5 получали с помощью алкилирования производных 2-(2,5-диметил)-пиразолил-3-гидрокси-4(3Н)-хиназолинонов (соединения **6a-c**) бензиловыми эфирами хлоруксусной кислоты (соединения **7a-c**) в диметилсульфоксиде в присутст-

вии карбоната калия при комнатной температуре (рис. 1). Заместители в соединениях **6** и **7**:

6a: $R_1 = R_2 = H$;

7a: $R_3 = R_4 = H$;

6b: $R_1 = H, R_2 = Br$;

7b: $R_3 = F, R_4 = H$;

6c: $R_1 = R_2 = OMe$;

7c: $R_3 = H, R_4 = OMe$.

Соединения **6a-c** получены согласно методике, описанной Хохловым (Хохлов П.С., Кривенко В.И., Осипов В.Н. и др. 2-(2,5-диметил)-пиразолил-3-гидрокси-4(3Н)-хиназолинон, обладающий антивирусной, антибактериальной и фунгицидной активностью, и способ его получения. Патент RU 2451683. 27.05.2012).

Общая методика синтеза соединений 1–5

К раствору соответствующего соединения **6** (1,0 ммоль) в 5 мл ДМСО добавляли мелкоизмельченный карбонат калия (1,0 ммоль) и по каплям вносили раствор соответствующего соединения **7** (1,1 ммоль) в 1 мл ДМСО. Перемешивали при комнатной температуре 12 ч, выливали в охлажденную воду (объемом 15 мл), отфильтровывали осадок и промывали его на фильтре (2 раза по 10 мл воды и затем 5 мл гексана).

ФИЗИКО-ХИМИЧЕСКИЕ ХАРАКТЕРИСТИКИ СОЕДИНЕНИЙ 1–5

Соединение 1

Бензил 2-((2-(3,5-диметил-1Н-пиразол-1-ил)-6,7-диметокси-4-оксохиназолин-3(4Н)-ил)окси)ацетат (рис. 2). Выход – 87 %. Температура плавления – 151–152 °С. Спектр 1H ядерного магнитного резонанса (ЯМР) (300 МГц, ДМСО- d_6 , δ м. д.): 7,49 (с, 1H),

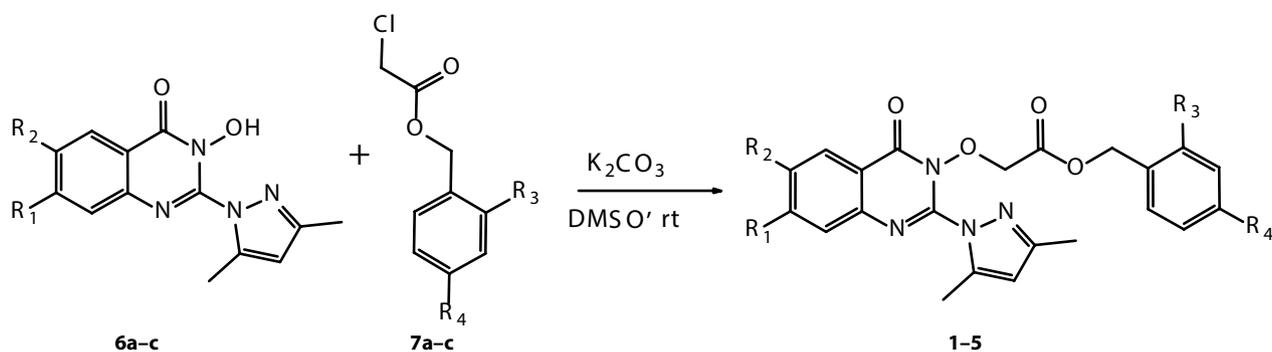


Рис. 1. Схема синтеза производных 3-гидроксикиназолина. DMSO – диметилсульфоксид

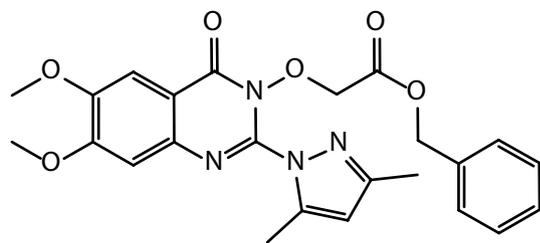


Рис. 2. Формула соединения 1

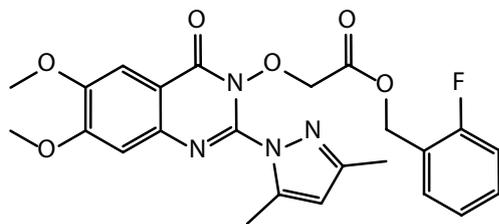


Рис. 3. Формула соединения 2

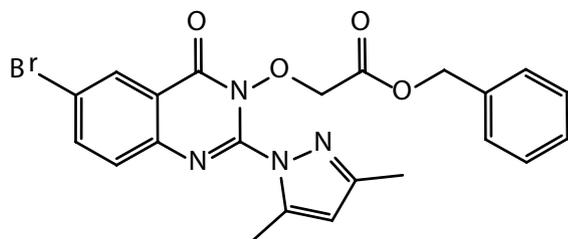


Рис. 4. Формула соединения 3

7,44–7,30 (м, 5H), 7,20 (с, 1H), 6,13 (с, 1H), 5,14 (д, $J = 16,9$ Гц, 4H), 3,92 (д, $J = 1,2$ Гц, 6H), 2,39 (с, 3H), 2,09 (с, 3H). ESI–MS (m/z): 465,2 [$M + H$]⁺.

Соединение 2

2-фторбензил 2-((2-(3,5-диметил-1H-пирозол-1-ил)-6,7-диметокси-4-оксохиназолин-3(4H)-ил)окси)ацетат (рис. 3). Выход – 92 %. Температура плавления – 154–155 °С. Спектр ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-*d*₆, δ м. д.): 7,51–7,37 (м, 3H), 7,30–7,16 (м, 3H), 6,11 (с, 1H), 5,22 (с, 2H), 5,11 (с, 2H), 3,95–3,88 (м, 7H), 2,39 (с, 3H), 2,09 (с, 3H). ESI–MS (m/z): 483,2 [$M + H$]⁺.

Соединение 3

Бензил 2-((2-(3,5-диметил-1H-пирозол-1-ил)-6-бром-4-оксохиназолин-3(4H)-ил)окси)ацетат

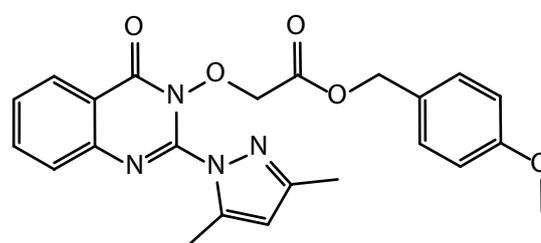


Рис. 5. Формула соединения 4

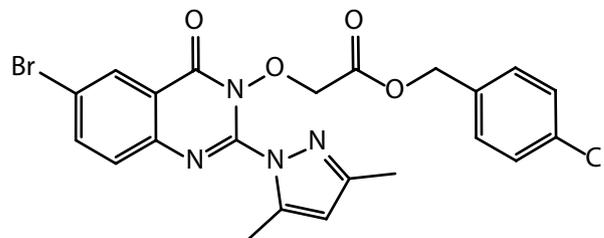


Рис. 6. Формула соединения 5

(рис. 4). Выход – 88 %. Температура плавления – 112 °С. Спектр ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-*d*₆, δ м. д.): 8,26 (д, $J = 2,3$ Гц, 1H), 8,04 (дд, $J = 8,7; 2,4$ Гц, 1H), 7,65 (д, $J = 8,7$ Гц, 1H), 7,49–7,34 (м, 4H), 6,16 (с, 1H), 5,16 (д, $J = 6,9$ Гц, 4H), 2,41 (с, 3H), 2,09 (с, 3H). ESI–MS (m/z): 483,2 [$M + H$]⁺.

Соединение 4

4-метоксибензил 2-((2-(3,5-диметил-1H-пирозол-1-ил)-4-оксохиназолин-3(4H)-ил)окси)ацетат (рис. 5). Выход – 82 %. Температура плавления – 101–102 °С. Спектр ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-*d*₆, δ м. д.): 8,23–8,14 (м, 1H), 7,90 (дд, $J = 8,5; 7,2; 1,6$ Гц, 1H), 7,71 (дт, $J = 8,1; 0,9$ Гц, 1H), 7,62 (дд, $J = 8,2; 7,2; 1,2$ Гц, 1H), 7,37–7,25 (м, 2H), 6,98–6,87 (м, 2H), 6,15 (д, $J = 1,1$ Гц, 1H), 5,10 (д, $J = 1,4$ Гц, 4H), 3,75 (с, 3H), 2,41 (д, $J = 0,8$ Гц, 3H), 2,10 (с, 3H). ESI–MS (m/z): 435,2 [$M + H$]⁺.

Соединение 5

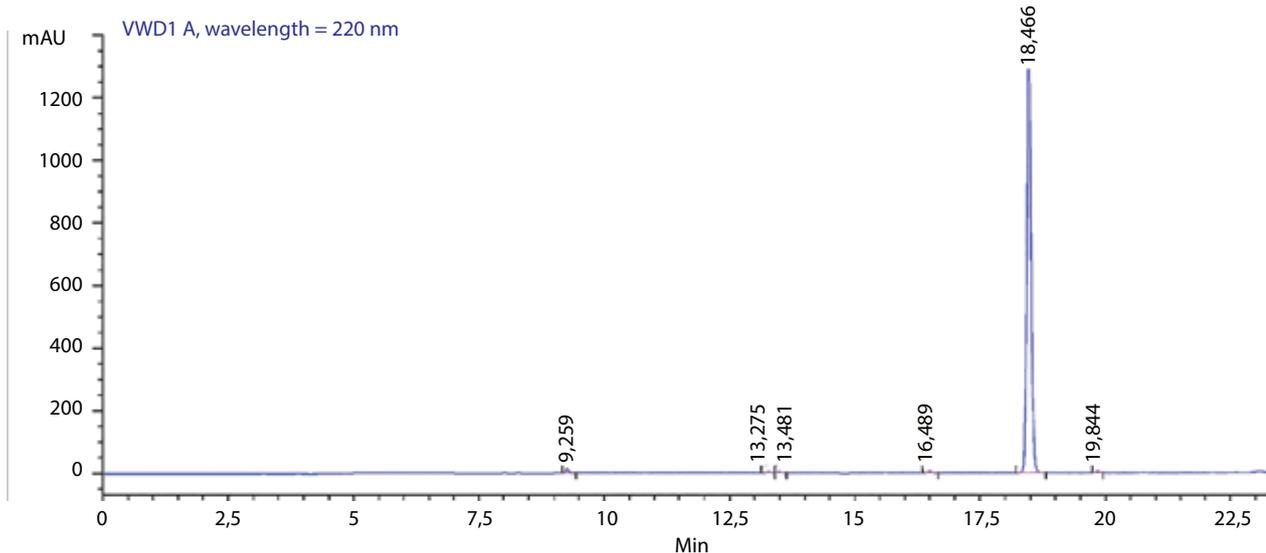
4-хлорбензил 2-((2-(3,5-диметил-1H-пирозол-1-ил)-6-бром-4-оксохиназолин-3(4H)-ил)окси)ацетат (рис. 6). Выход – 82 %. Температура плавления – 123–124 °С. Спектр ¹H ЯМР (300 МГц, ДМСО-*d*₆, δ м. д.):

8,26 (д, $J = 2,3$ Гц, 1H), 8,04 (дд, $J = 8,7, 2,4$ Гц, 1H),
7,65 (д, $J = 8,7$ Гц, 1H), 7,51–7,34 (м, 4H), 6,16 (с, 1H),
5,16 (д, $J = 7,2$ Гц, 4H), 2,44–2,38 (с, 3H), 2,09 (с, 3H).

ESI–MS (m/z): 519,2 $[M + H]^+$, 517,2 $[M + H]^+$, 541,1 $[M + Na]^+$, 539,1 $[M + Na]^+$ – согласуется с изотопным составом молекулы, содержащей атомы Вг и Cl.

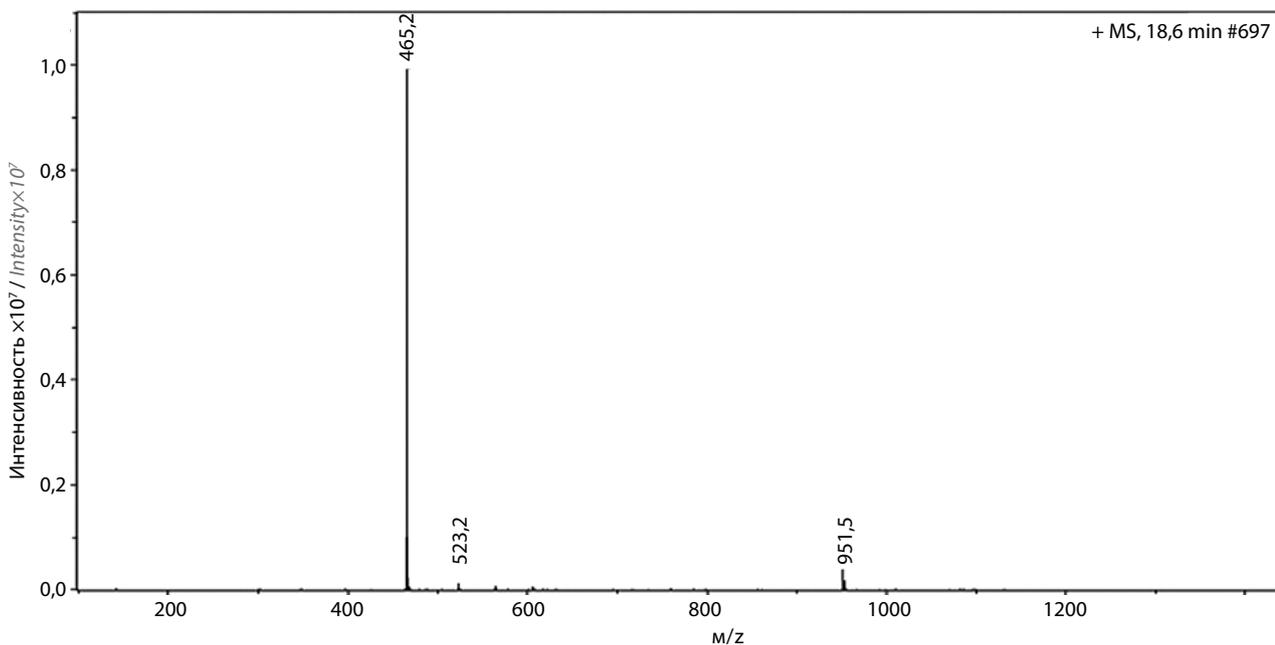
ХРОМАТОГРАММЫ ВЫСОКОЭФФЕКТИВНОЙ ЖИДКОСТНОЙ ХРОМАТОГРАФИИ И МАСС-СПЕКТРЫ С ИОНИЗАЦИЕЙ ЭЛЕКТРОСПРЕЕМ

Хроматограмма соединения 1

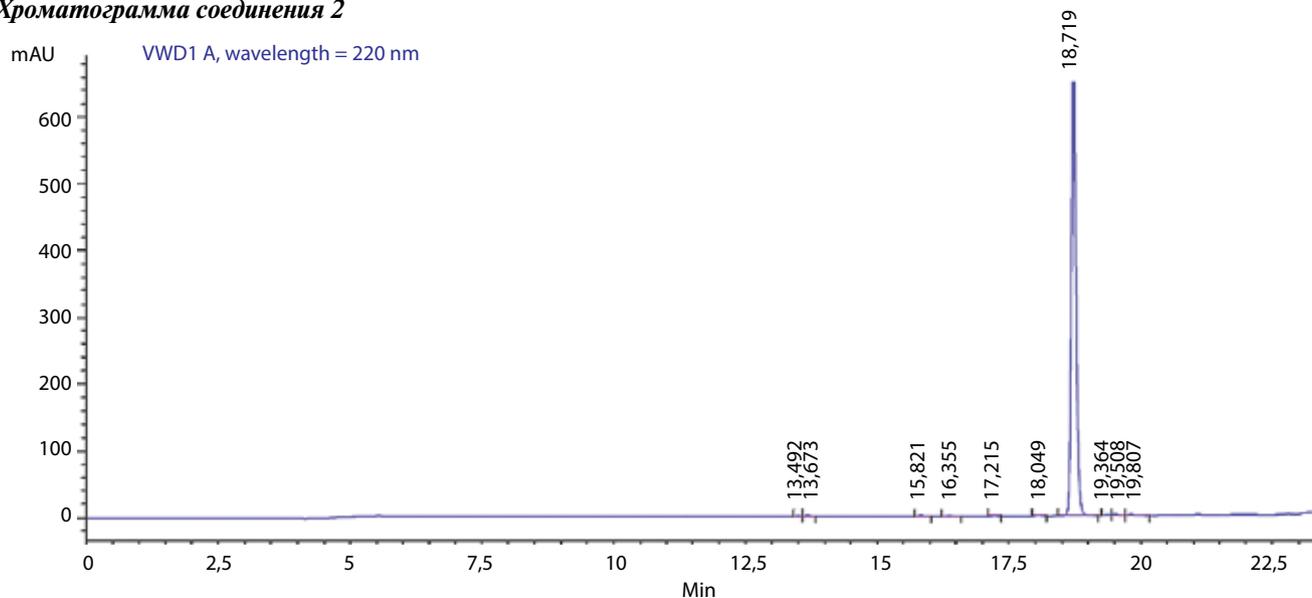


Пик / Peak #	Время удерживания, мин / RetTime, min	Тип интегрирования пика / Type of peak integration	Ширина, мин / Width, min	Площадь, мАУ * с / Area, mAU*s	Высота, мАУ / Height, mAU	Площадь, % / Area, %
1	9,259	MM	0,0708	58,30097	13,72296	0,7194
2	13,275	MF	0,0907	21,95222	4,03172	0,2709
3	13,481	FM	0,0987	21,31081	3,59921	0,2630
4	16,489	MM	0,0999	35,90161	5,98675	0,4430
5	18,466	MM	0,0995	7944,60742	1331,28186	98,0275
6	19,844	MM	0,0899	22,39783	4,15110	0,2764

Масс-спектр (ESI–MS) соединения 1

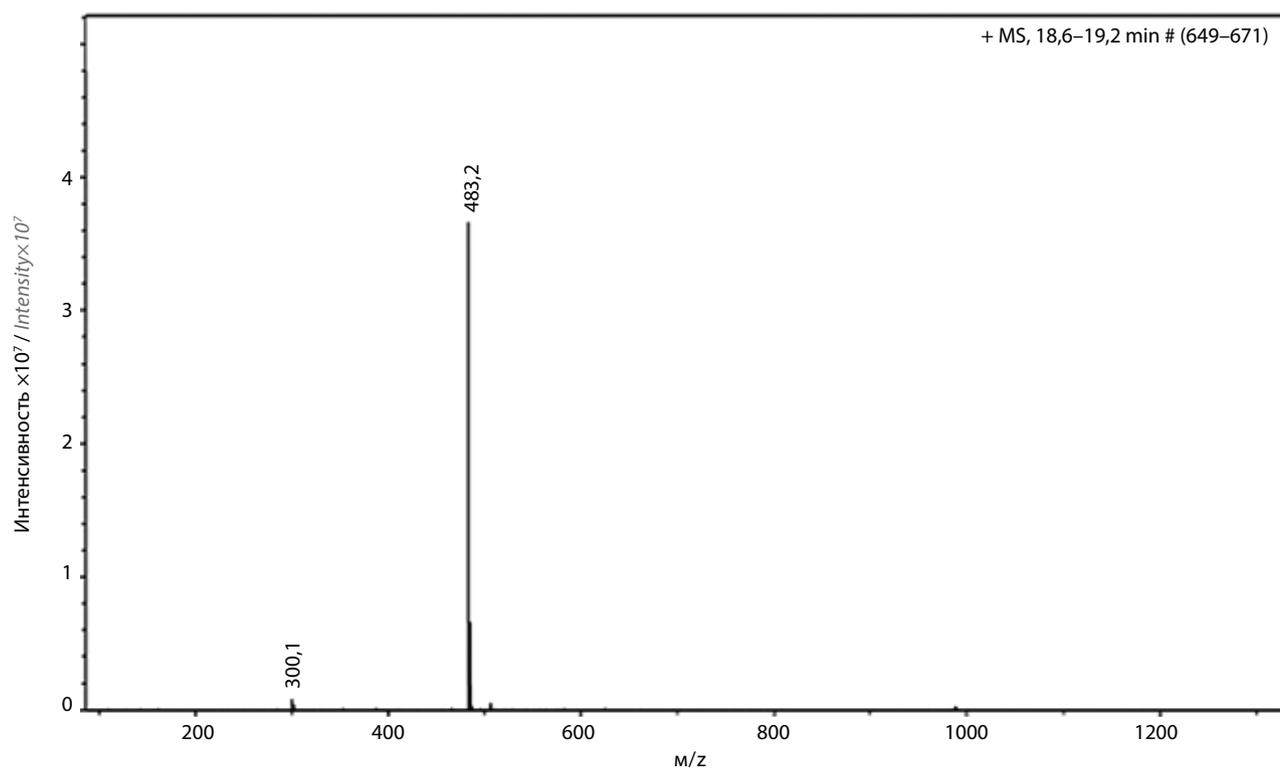


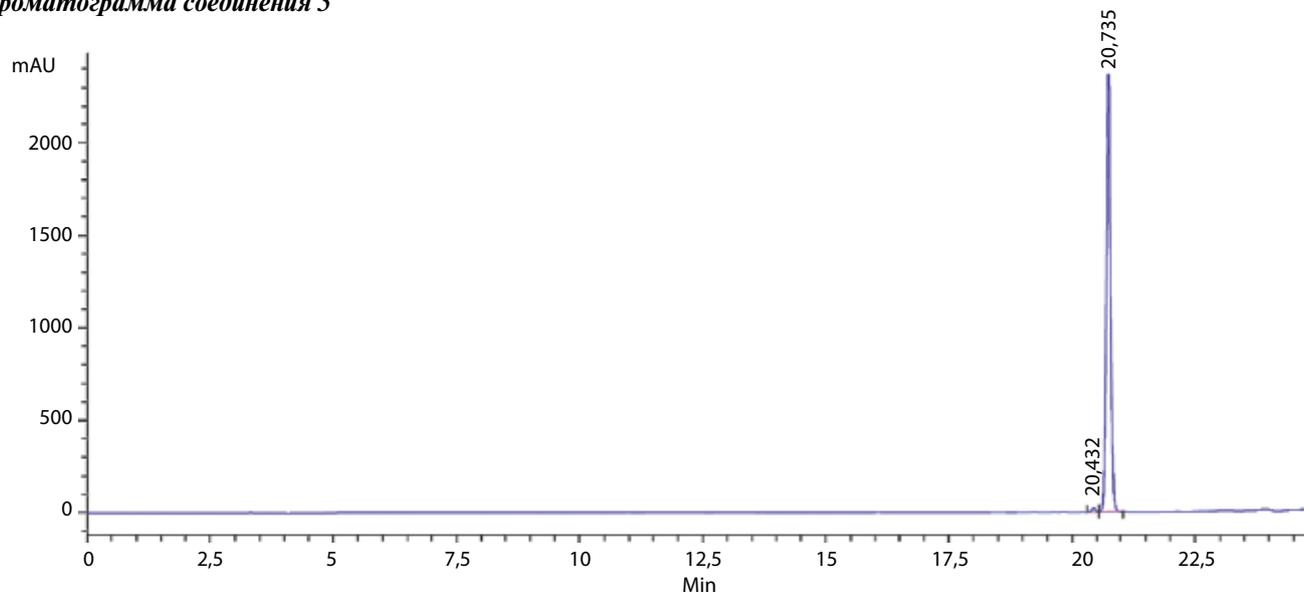
Хроматограмма соединения 2



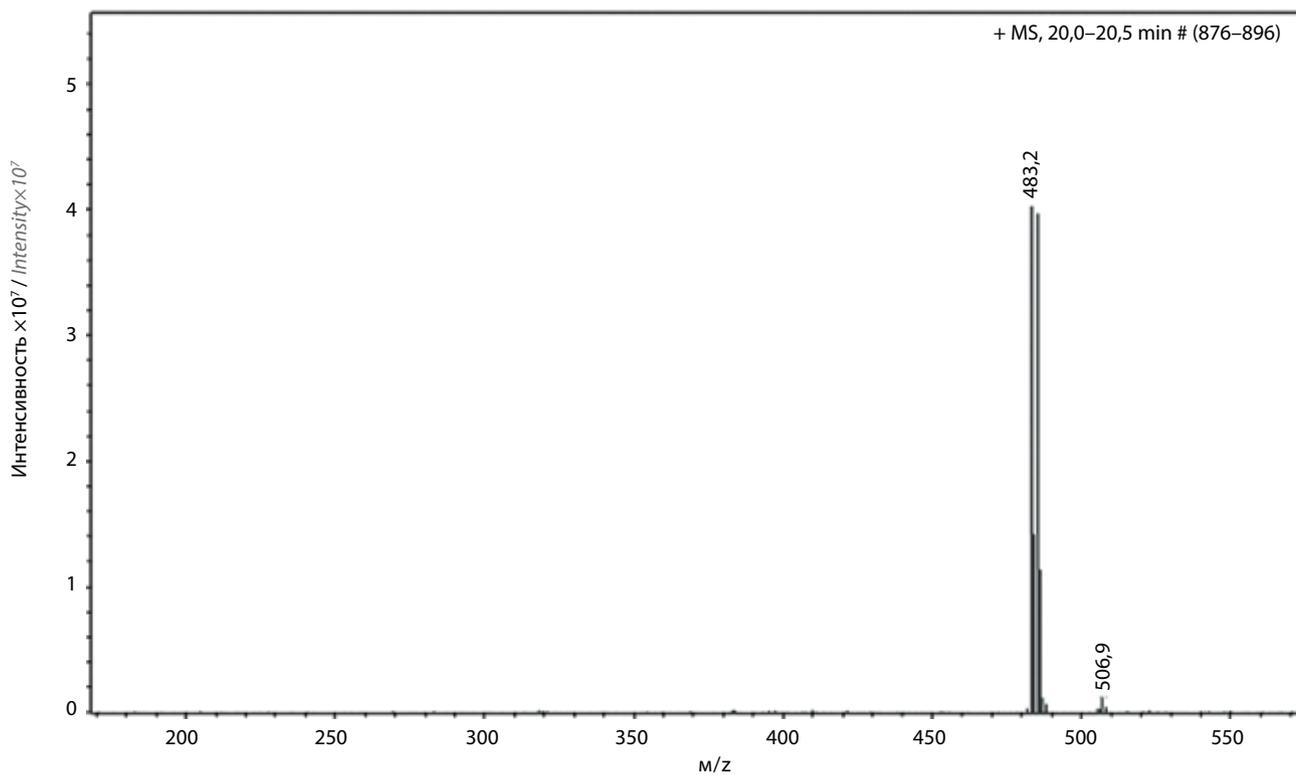
Пик / Peak #	Время удерживания, мин / RetTime, min	Тип интегрирования пика / Type of peak integration	Ширина, мин / Width, min	Площадь, мАУ * с / Area, mAU*s	Высота, мАУ / Height, mAU	Площадь, % / Area, %
1	13,492	MF	0,0930	5,09291	9,12761e-1	0,1236
2	13,673	FM	0,0994	10,08231	1,68999	0,2446
3	15,821	MM	0,0961	8,92665	1,54842	0,2166
4	16,355	MM	0,1439	8,85033	1,02493	0,2147
5	17,215	MM	0,0958	3,68793	6,41300e-1	0,0895
6	18,049	MM	0,1054	6,31028	9,97915e-1	0,1531
7	18,719	MM	0,1024	4033,22852	656,30487	97,8554
8	19,364	MF	0,1250	11,37026	1,51646	0,2759
9	19,508	MF	0,1260	17,70498	2,34147	0,4296
10	19,807	FM	0,1352	16,36624	2,01738	0,3971

Масс-спектр (ESI-MS) соединения 2

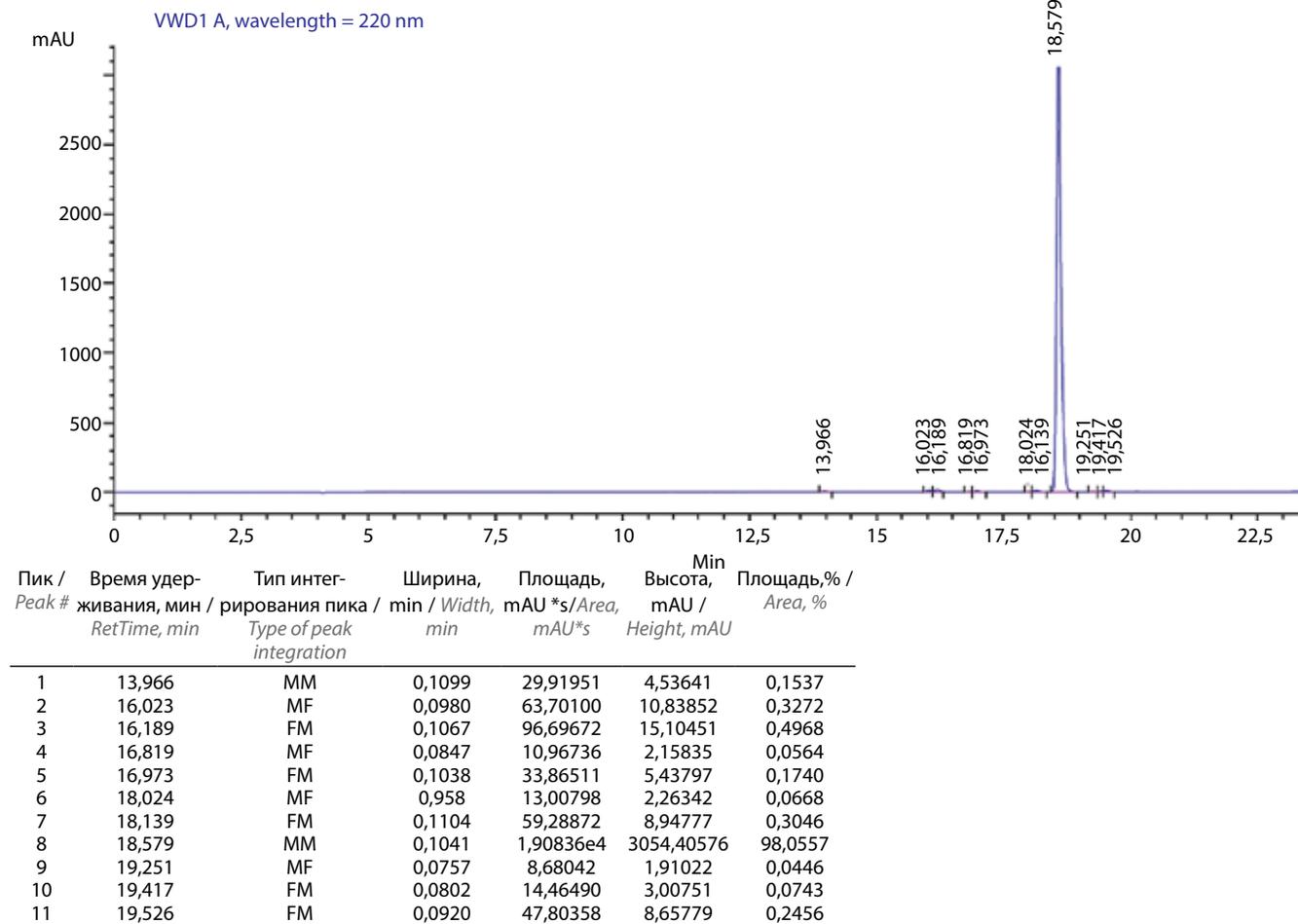


Хроматограмма соединения 3

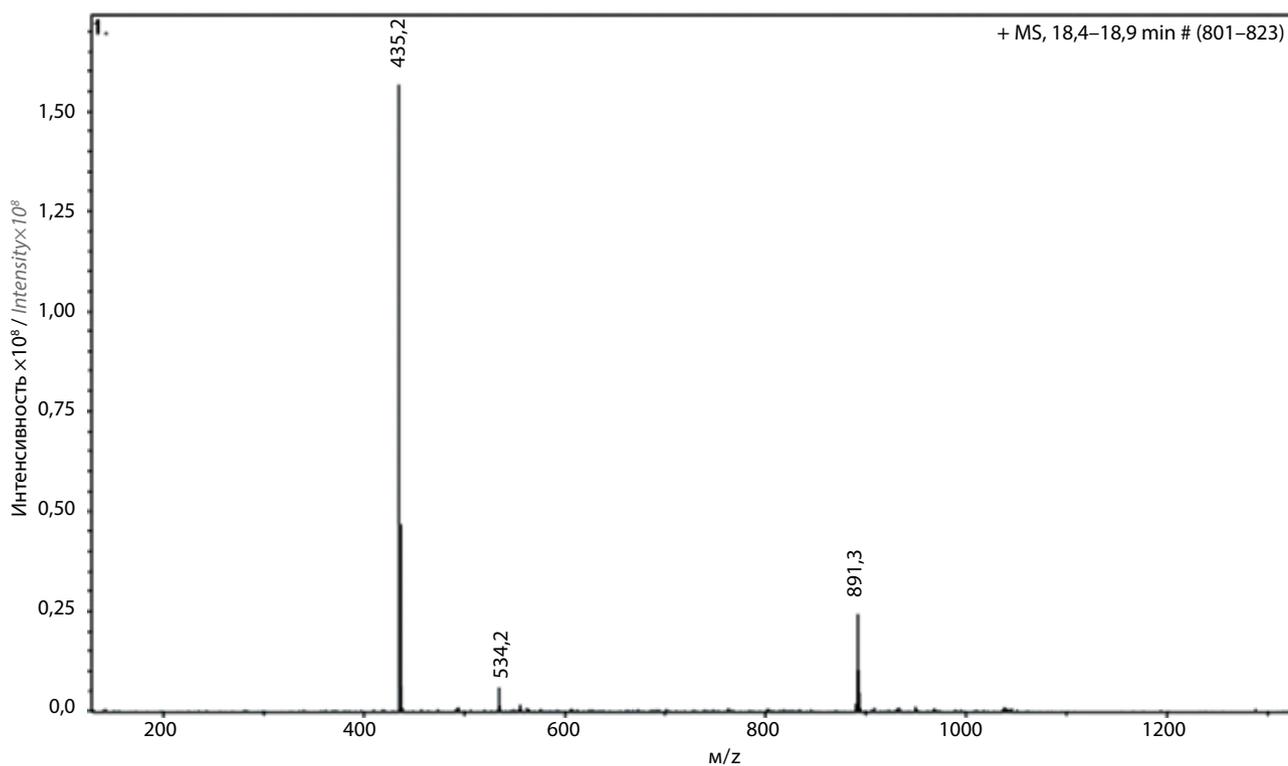
Пик / Peak #	Время удерживания, мин / RetTime, min	Тип интегрирования пика / Type of peak integration	Ширина, мин / Width, min	Площадь, mAU*s/Area, mAU*s	Высота, mAU / Height, mAU	Площадь,% / Area, %
1	20,432	MF	0,0900	106,37778	19,70986	0,7446
2	20,735	FM	0,0990	1,41806e4	2364,72876	99,2554

Масс-спектр (ESI-MS) соединения 3

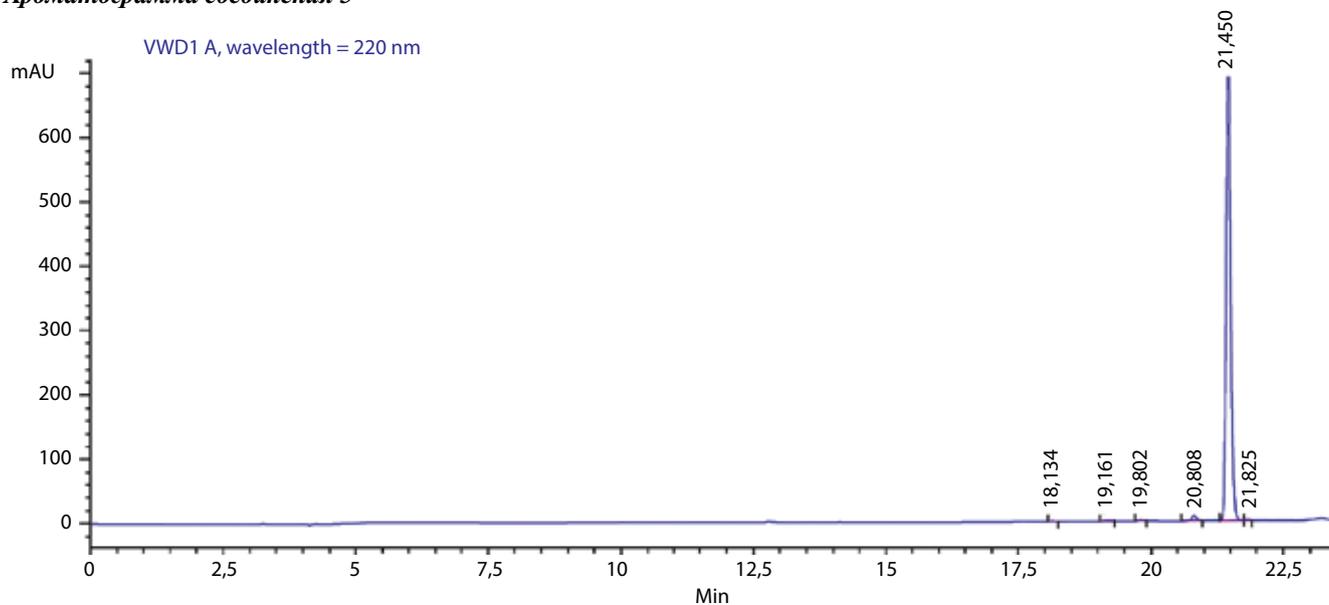
Хроматограмма соединения 4



Масс-спектр (ESI-MS) соединения 4

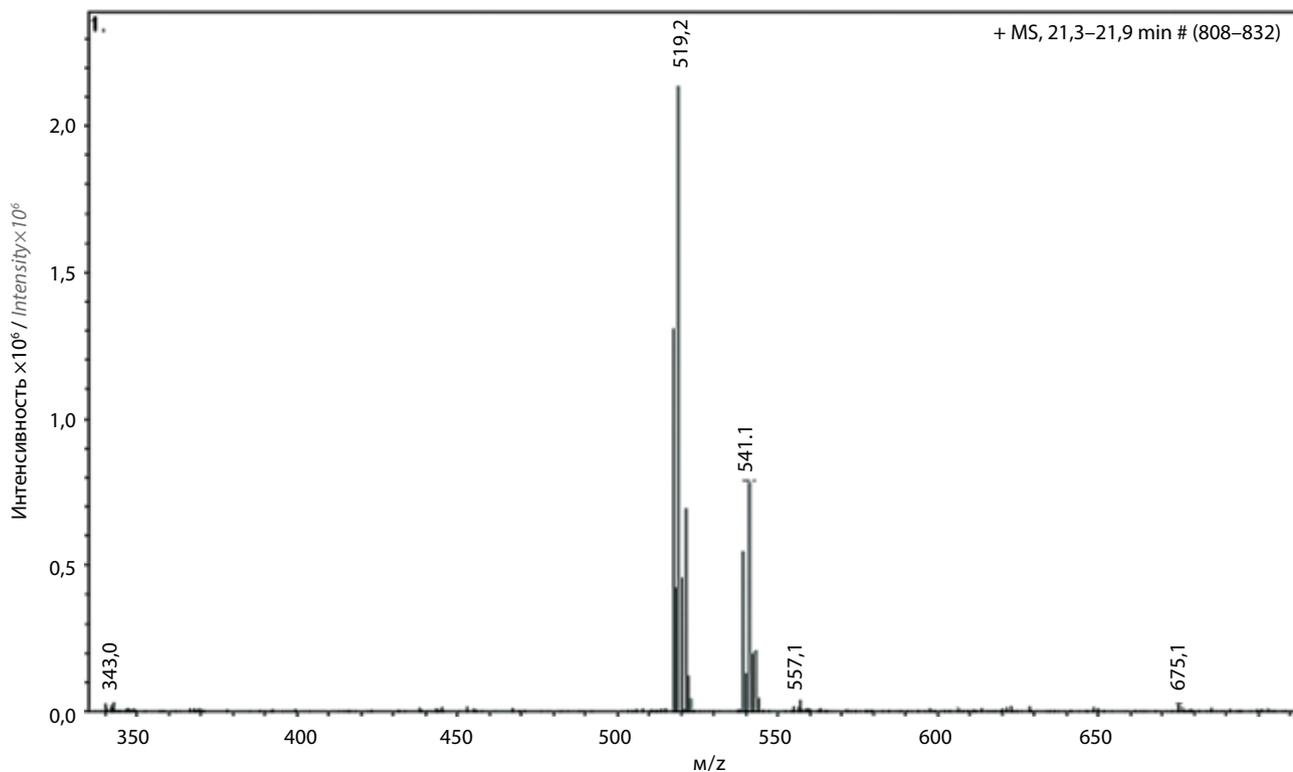


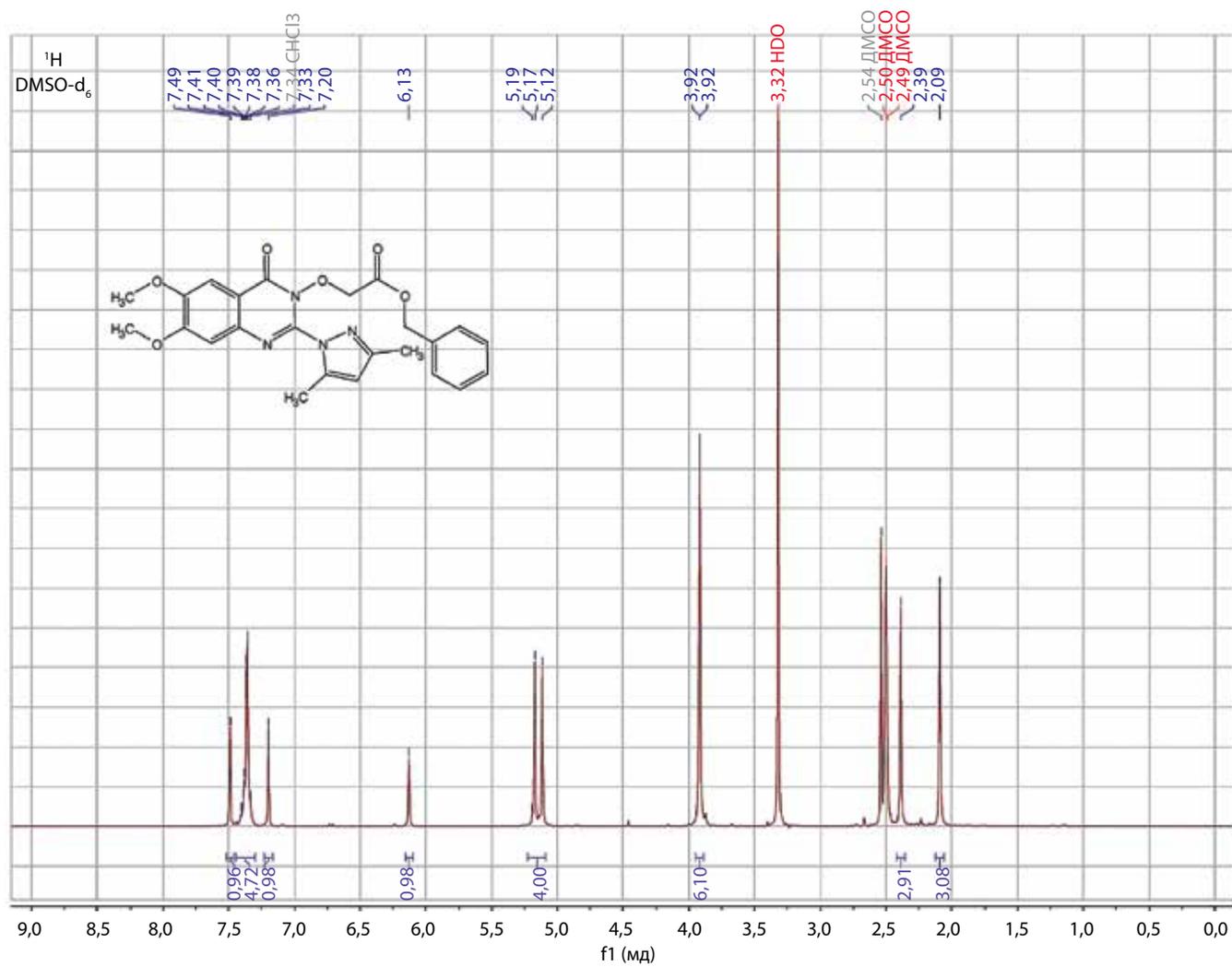
Хроматограмма соединения 5



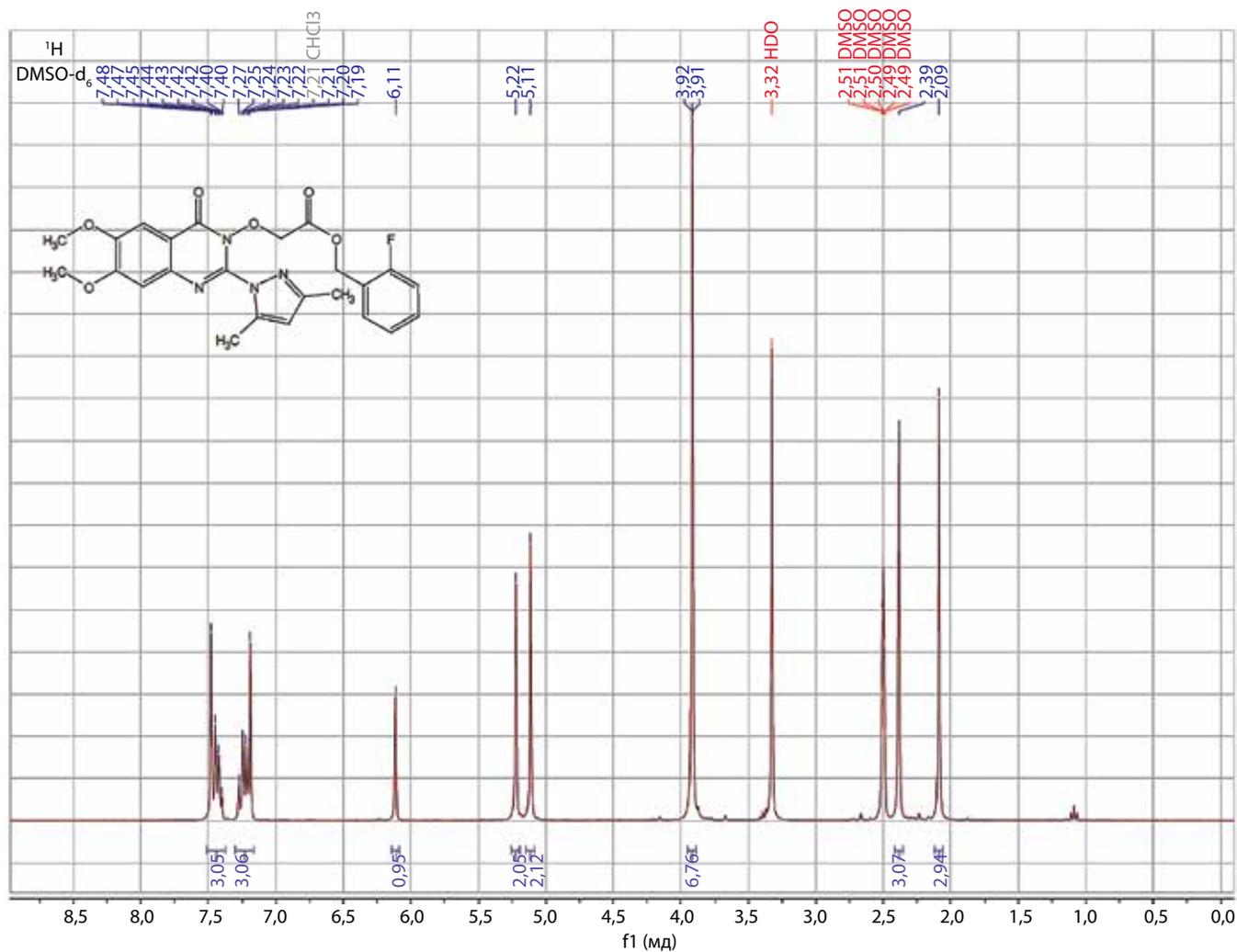
Пик / Peak #	Время удерживания, мин / RetTime, min	Тип интегрирования пика / Type of peak integration	Ширина, мин / Width, min	Площадь, mAU*s/Area, mAU*s	Высота, mAU / Height, mAU	Площадь, % / Area, %
1	18,134	MM	0,0916	5,13564	9,34517e-1	0,1242
2	19,161	MM	0,1416	6,99125	8,22852e-1	0,1691
3	19,802	MM	0,0998	9,90933	1,65525	0,2397
4	20,808	MM	0,0999	51,35847	8,57061	1,2422
5	21,450	MF	0,0988	4050,33594	683,11591	97,9612
6	21,825	FM	0,906	2,00652	2,00652	0,2637

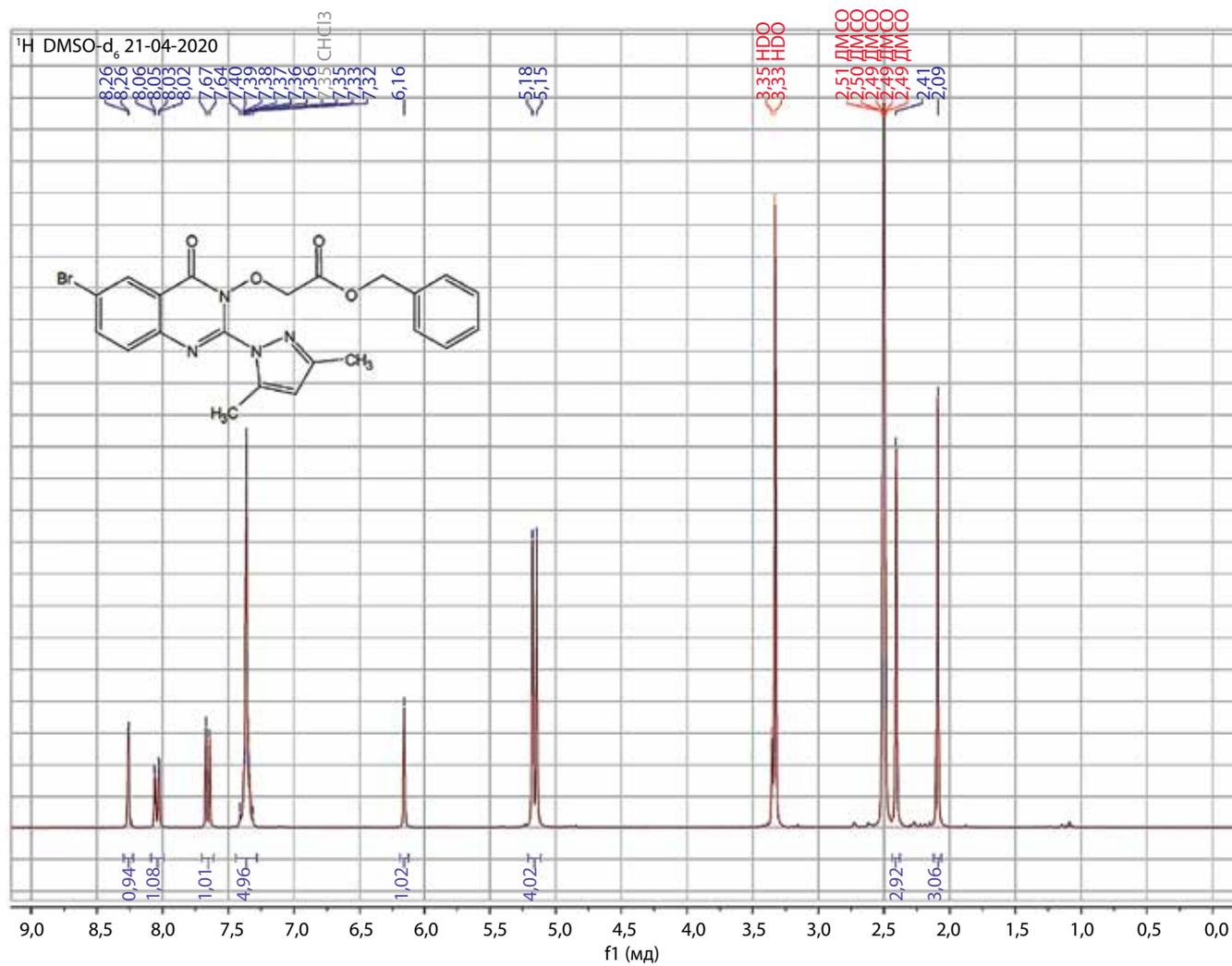
Масс-спектр (ESI-MS) соединения 5



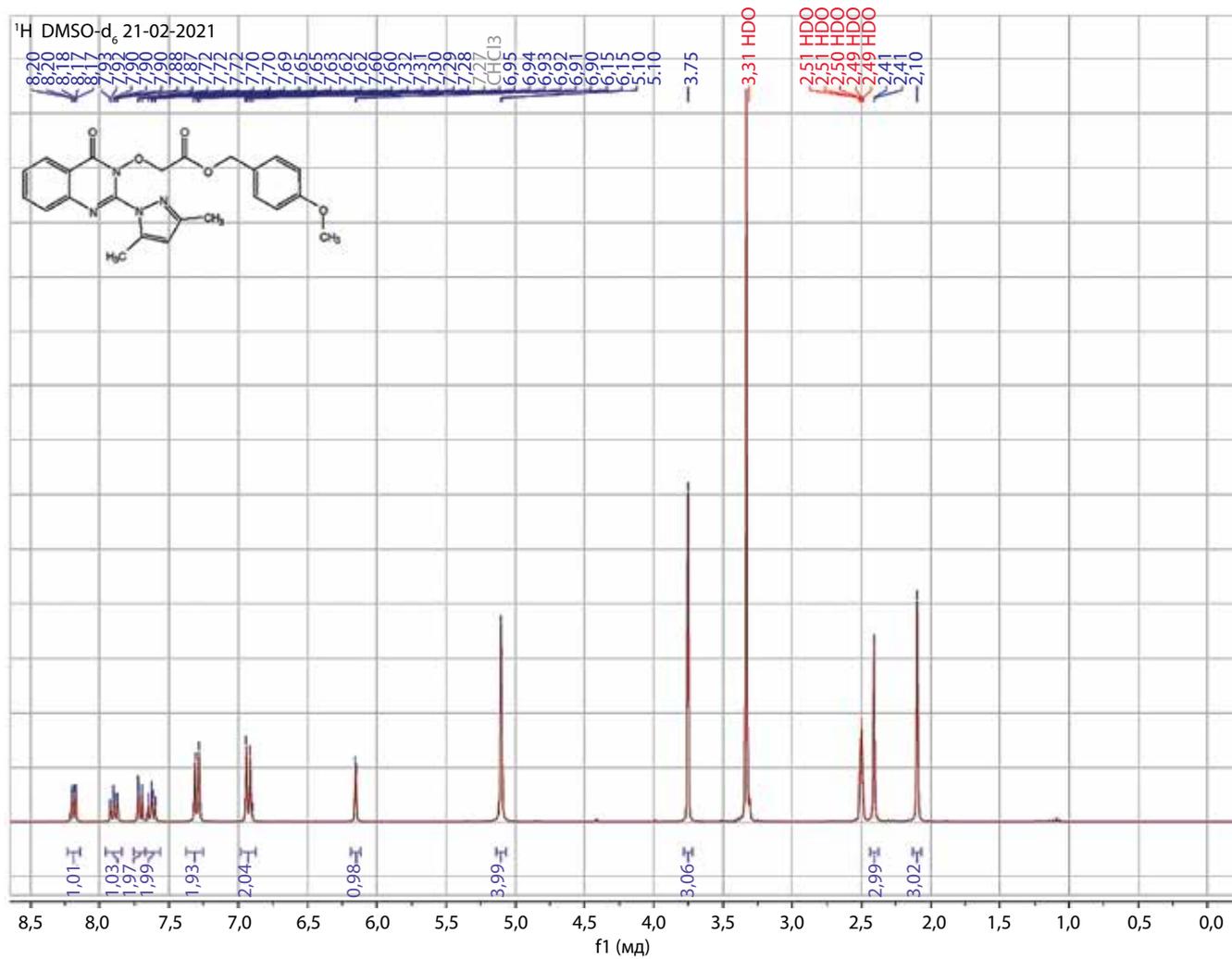
СПЕКТРЫ ЯДЕРНОГО МАГНИТНОГО РЕЗОНАНСА ^1H ^1H ЯМР спектр соединения 1

¹H ЯМР спектр соединения 2



¹H ЯМР спектр соединения 3

¹H ЯМР спектр соединения 4



¹H ЯМР спектр соединения 5