

МИНОБРНАУКИ РОССИИ
Федеральное государственное бюджетное образовательное учреждение
высшего образования
**«САРАТОВСКИЙ НАЦИОНАЛЬНЫЙ ИССЛЕДОВАТЕЛЬСКИЙ
ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ ИМЕНИ Н. Г.
ЧЕРНЫШЕВСКОГО»**

Кафедра органической и биоорганической химии

**СИНТЕЗ И ФЛУОРЕСЦЕНТНЫЕ СВОЙСТВА АЗОКРАСИТЕЛЕЙ НА
ОСНОВЕ 4-ГИДРОКСИ-2Н-ХРОМЕН-2-ОНА**

АВТОРЕФЕРАТ БАКАЛАВРСКОЙ РАБОТЫ

студента IV курса 412 группы
направления 04.03.01 – «Химия»

Института химии

Седышева Семена Алексеевича

Научный руководитель
доцент, к.х.н.

подпись, дата

Д. Н. Ибрагимова

Зав. кафедрой, д.х.н., профессор

подпись, дата

А. Ю. Егорова

Саратов 2026

Введение

Актуальность и цель работы. В настоящее время всё чаще появляются исследования о синтезе новых соединений, обладающих как биологической, так и оптической активностью, применяемых в качестве биосовместимых меток, что является одной из наиболее актуальных задач современной науки.

Различные соединения, включающие хромен-2-оновый (кумариновый) фрагмент, известны наличием выраженных флуоресцентных свойств. Такие модификации молекул, как добавление азогруппы в структуру, делает их перспективными кандидатами на роль биоактивных красителей с яркой люминесценцией.

Поэтому нам представилось интересным модификации таких молекул, как добавление азогруппы в структуру, делающими их перспективными кандидатами на роль биоактивных красителей с яркой люминесценцией.

Таким образом, целью настоящей работы является синтез азокрасителей 4-гидрокси-2*H*-хромен-2-онового ряда, исследование их флуоресцентных свойств и биологической активности.

Для достижения поставленной цели необходимо было решить ряд **задач**:

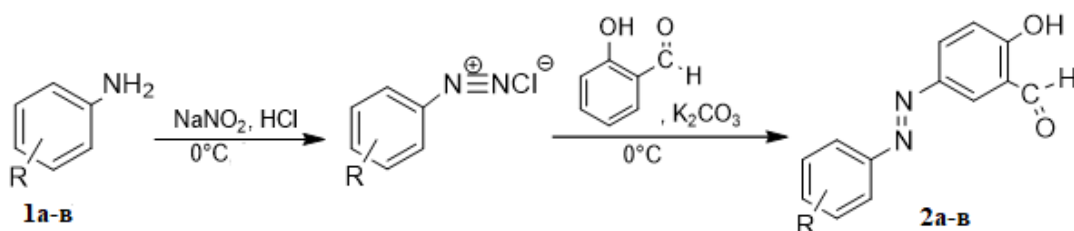
1. Синтез азокрасителей на основе 4-гидрокси-2*H*-хромен-2-она;
2. Установление состава и строения синтезированных соединений методами элементного анализа, ЯМР ^1H , ^{13}C спектроскопии, гетероядерной корреляции HSQC и HMBC;
3. Изучение флуоресцентных свойств полученных соединений;
4. Исследование *in silico* биологической активности синтезированных бискумаринов с помощью программы ADMETlab 3.0 и методом молекулярного докинга (Autodock Vina).

Основное содержание работы

1 Синтез азокрасителей на основе 4-гидрокси-2*H*-хромен-2-она

Синтез азокрасителей с каркасом бис(4-гидроксикумарина) был осуществлен в несколько этапов.

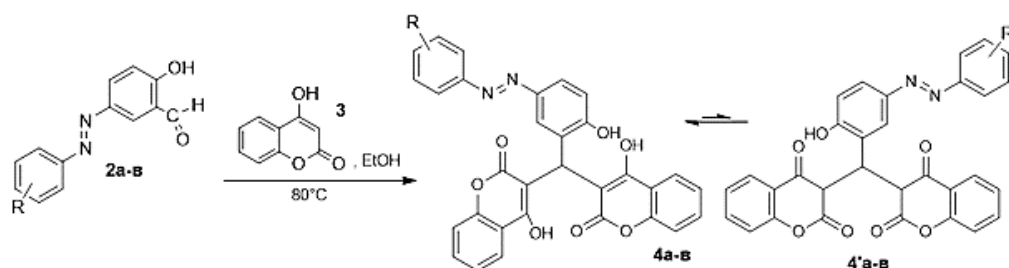
На первом этапе при взаимодействии ароматического амина, растворенного в соляной кислоте и нитрита натрия, образуется соль диазония, которая стабилизируется при низких температурах (0-5°C).



R = H (**a**); 4-NO₂ (**б**); 3,5-Cl (**в**).

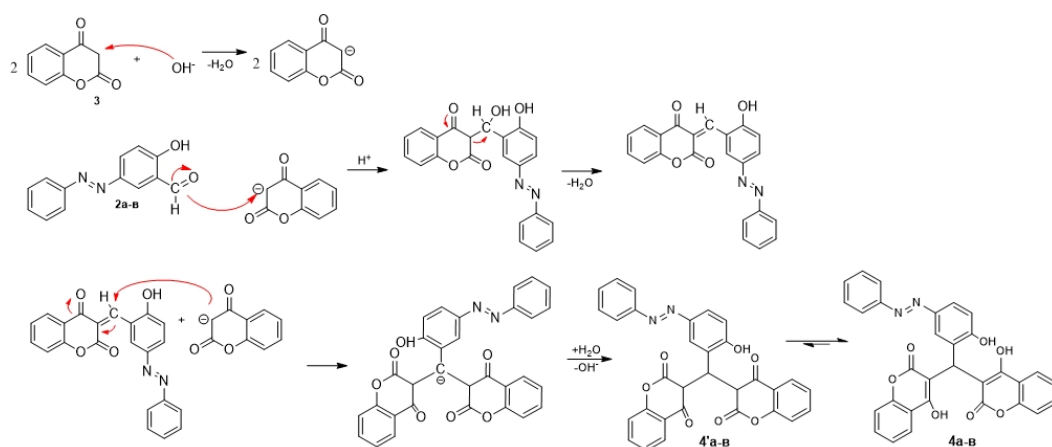
Вторым этапом готовят водный раствор салицилового альдегида с карбонатом калия, вследствие чего молекула альдегида переходит в активную форму. Далее была проведена реакция азосочетания: активированная карбонильная группа 2-гидроксибензальдегида выступает в роли нуклеофила и взаимодействует с электрофильным центром соли диазония, что приводит к образованию промежуточных продуктов. Полученные соединения **2a-b** были выделены, и их структура установлена с помощью протонных спектров ЯМР, а состав был определён благодаря элементному анализу.

На заключительном этапе проведена реакция азокрасителей **2a-2в** с избытком 4-гидрокси-2*H*-хромен-2-она (**3**) при нагревании в этаноле с выделением целевых продуктов бис-строения **4a-4в**:



R = H (**a**); 4-NO₂ (**б**); 3,5-Cl (**в**).

Образование бис-продуктов происходит в две стадии: конденсация Кневенагеля азосоединений **2a-в** с 4-гидроксикумарином **3** с последующим присоединением ещё одной молекулы хроменона **3** по реакции Михаэля:



Выходы синтезированных азокрасителей 4-гидрокси-2*H*-хромен-2-она варьировались в пределах 41-50%.

Строение и состав полученных соединений **4a-4в** доказаны с помощью ЯМР спектроскопии и элементного анализа.

2 Исследование флуоресцентных свойств азокрасителей 4-гидрокси-2*H*-хромен-2-она

Нами были записаны УФ-спектры поглощения и спектры флуоресценции соединений **4a-в** в хлороформе. (рис. 1).

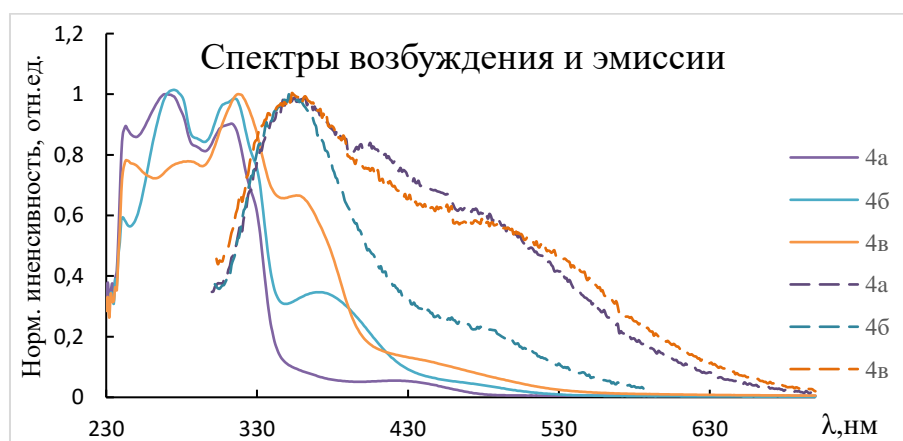


Рисунок 1 – Спектры возбуждения (сплошная линия) и эмиссии (пунктирная линия) азокрасителей 4-гидрокси-2*H*-хромен-2-она **4a-в** в хлороформе

Спектральные характеристики поглощения и эмиссии синтезированных соединений приведены в таблице 1:

Таблица 1 – Молярные коэффициенты поглощения и максимумы поглощения и эмиссии соединений **4а-в**

Соединения	λ_{max} (ПОГЛ.), нм	ϵ , л \times МОЛЬ ⁻¹ \times СМ ⁻¹	λ_{max} (ИСП.), нм
4а	269	25289	358
4б	278	30384	351
4в	321	31146	354

Полученные молярные коэффициенты экстинкции, превышающие значение 20000 л \times моль⁻¹ \times см⁻¹, свидетельствуют о высокой степени поглощения фотонов при низких концентрациях (примерно 0,0001 моль/л) исследуемых соединений, что косвенно указывает на возможность проявления ими флуоресцентных свойств.

3 Молекулярный докинг полученных бискумаринов

3.1 Исследование противораковой активности

В целях изучения противоопухолевой активности синтезированных нами соединений **4а-в** был проведен молекулярный докинг в отношении фермента циклин-зависимой киназы 9 (CDK9). В качестве стандарта сравнения был выбран воруциклиб, каркасом которого является 4*H*-хромен-4-он, как структурный аналог полученных нами соединений. Данный препарат был разработан в качестве перорального ингибитора CDK9.

Проведена оценка энергий связывания синтезированных молекул **4а-в** в отношении CDK9 (табл. 2). Анализ был выполнен в программе Chimera с использованием алгоритма Autodock Vina. Структурные данные белка-мишени были взяты в международной базе данных белков Protein Data Bank с идентификационным кодом 3LQ5. Молекулярные 3D структуры ингибиторов в pdb-формате генерировали с помощью программы Chem3D v19.1. Оптимизация геометрии выполнялась с помощью программы Spartan 14 v1.1.4 с использованием метода DFT функционалов B3LYP и базисного набор 6-31G*.

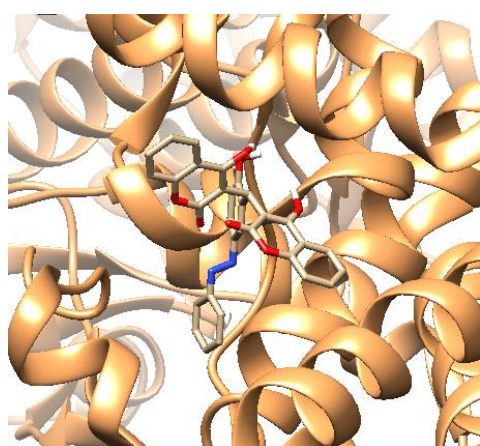
Моделирование и визуализацию взаимодействия ингибитора с аминокислотами белка в формате 3D осуществляли в программе BIOVIA Discovery Studio.

Таблица 2 – Оценка энергии связывания синтезированных соединений **4а-в** с мишенью CDK9

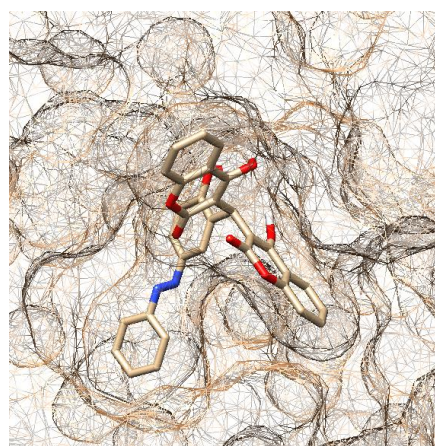
Соединение	Е, ккал/моль
4а	-9,6
4б	-9,0
4в	-9,3
Воруциклиб	-8,2

Рассчитанные значения энергий связывания лигандов **4а-в** с рецептором превышают таковую для воруциклиба. Лучшее сродство к белку показало соединение **4а** с энергией связывания -9,6 ккал/моль. Полученные нами результаты демонстрируют высокую вероятность проявления противоопухолевой активности для синтезированных соединений **4а-в**.

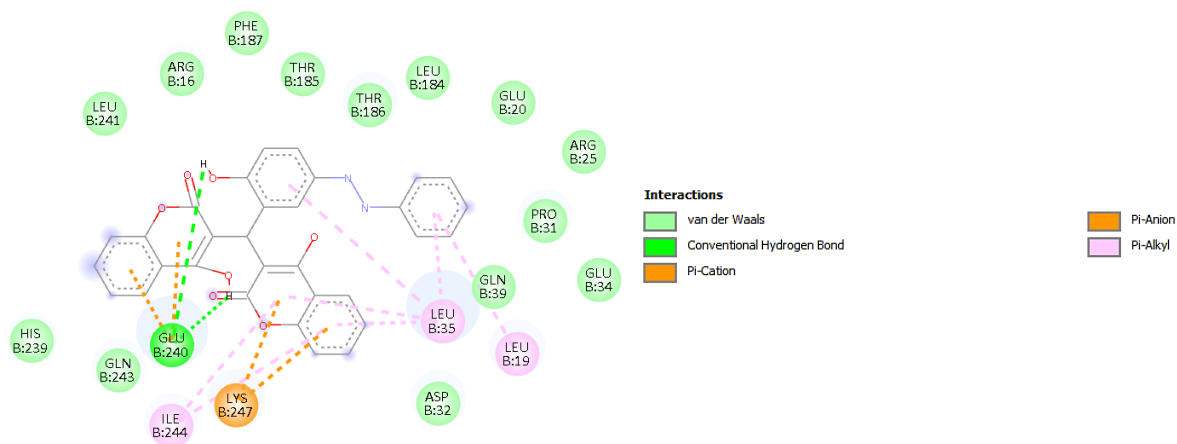
Изображения пространственного расположения и аминокислотного связывания лиганда-рецептора для соединения **4а** и препарата сравнения представлены на рисунках 2-3:



а

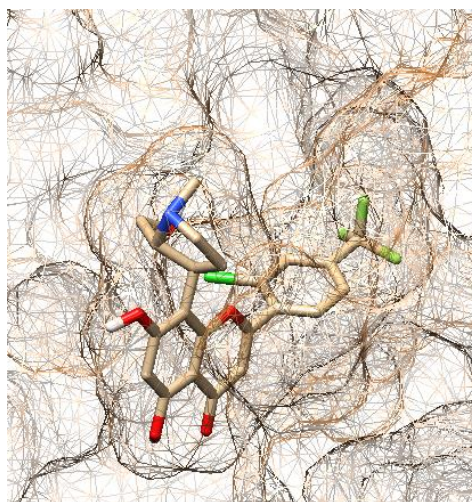
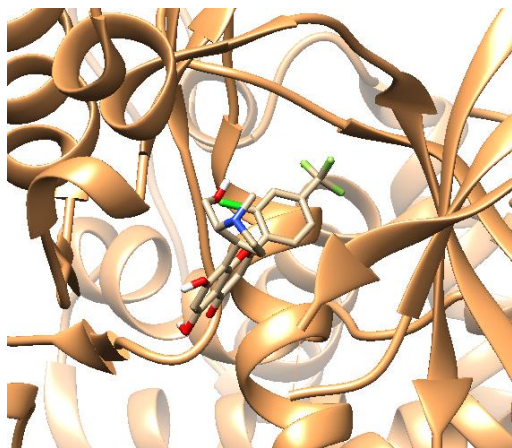


б

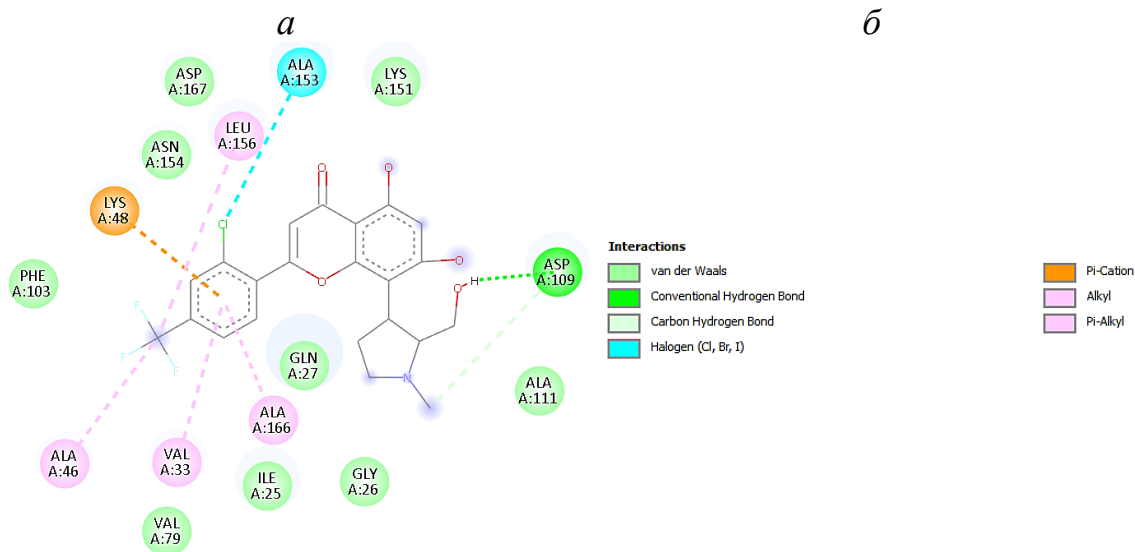


б

Рисунок 2 – Комплекс соединения **4a** с белком-мишенью общим планом (*a*), в координации (*б*) и аминокислотное окружение (*в*)



б



в

Рисунок 3 – Комплекс **воруциклиба** с белком-мишенью общим планом (*a*), в координации (*б*) и аминокислотное окружение (*в*)

Согласно полученным данным связывание лиганда с аминокислотными остатками белка происходит за счет гидрофобных и ван-дер-ваальсовых взаимодействий, π - π -стекинга, π -алкильных связей.

3.2 Исследование противомикробной активности

Помимо цитотоксичных свойств веществ нам представилось интересным оценить также антибактериальные свойства полученных соединений. Исходя из вышеуказанных литературных данных, различные производные 4-гидроксикумарина могут проявлять антибактериальную активность относительно грамположительного штамма *S. aureus*.

Проведена оценка энергий связывания синтезированных молекул **4а-в** в отношении белков *S. aureus*, имеющих PDB ID: 4H8E, 2ZCQ и 2W9S. Препаратом сравнения явился новобиоцин (табл. 3).

Таблица 3 – Оценка энергий связывания синтезированных соединений **4а-в** с бактериальными мишенями *S. aureus* (PDB ID: 2W9S, 2ZCQ, 4H8E)

Соединения	Белки-мишени (E, ккал/моль)		
	2W9S <i>S. aureus</i>	2ZCQ <i>S. aureus</i>	4H8E <i>S. aureus</i> N315
4а	-10,9	-9,1	-9,4
4б	-11,6	-9,0	-9,3
4в	-11,0	-9,4	-9,8
Новобиоцин	-9,7	-8,2	-8,6

Азокрасители на основе бис(4-гидроксикумарина) **4а-в** демонстрируют значительно более высокую аффинность к бактериальным белкам-мишеням (PDB ID: 2W9S, 2ZCQ, 4H8E), чем к раковой. Особенно наглядно это видно на

примере белка 2W9S, где значения энергий связывания варьировались от -10,9 до -11,6 ккал/моль.

Изображения пространственного расположения и аминокислотного связывания лиганда-рецептора бактериальной мишени золотистого стафилококка (2W9S) для соединения **46** и препарата сравнения представлены на рисунках 4-5:

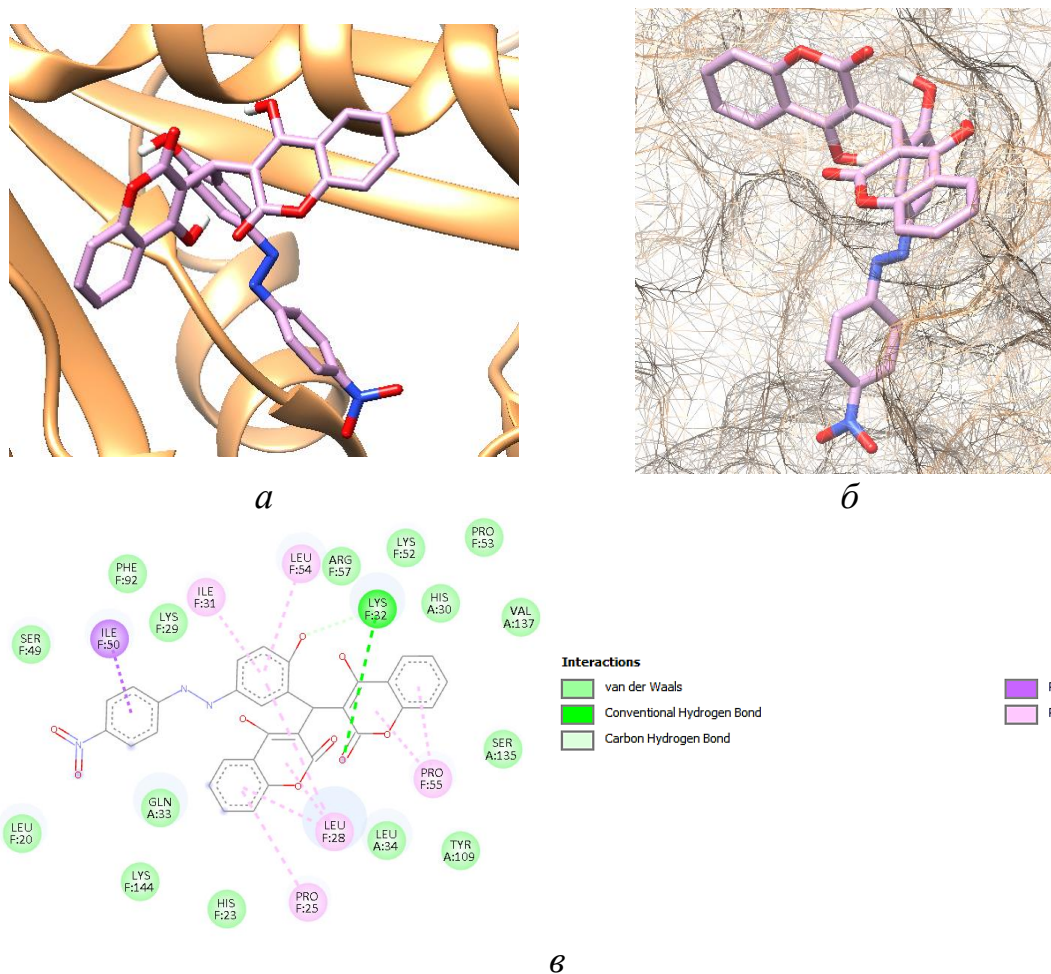


Рисунок 4 – Комплекс соединения **46** с белком-мишенью общим планом (а), в координации (б) и аминокислотное окружение (в)

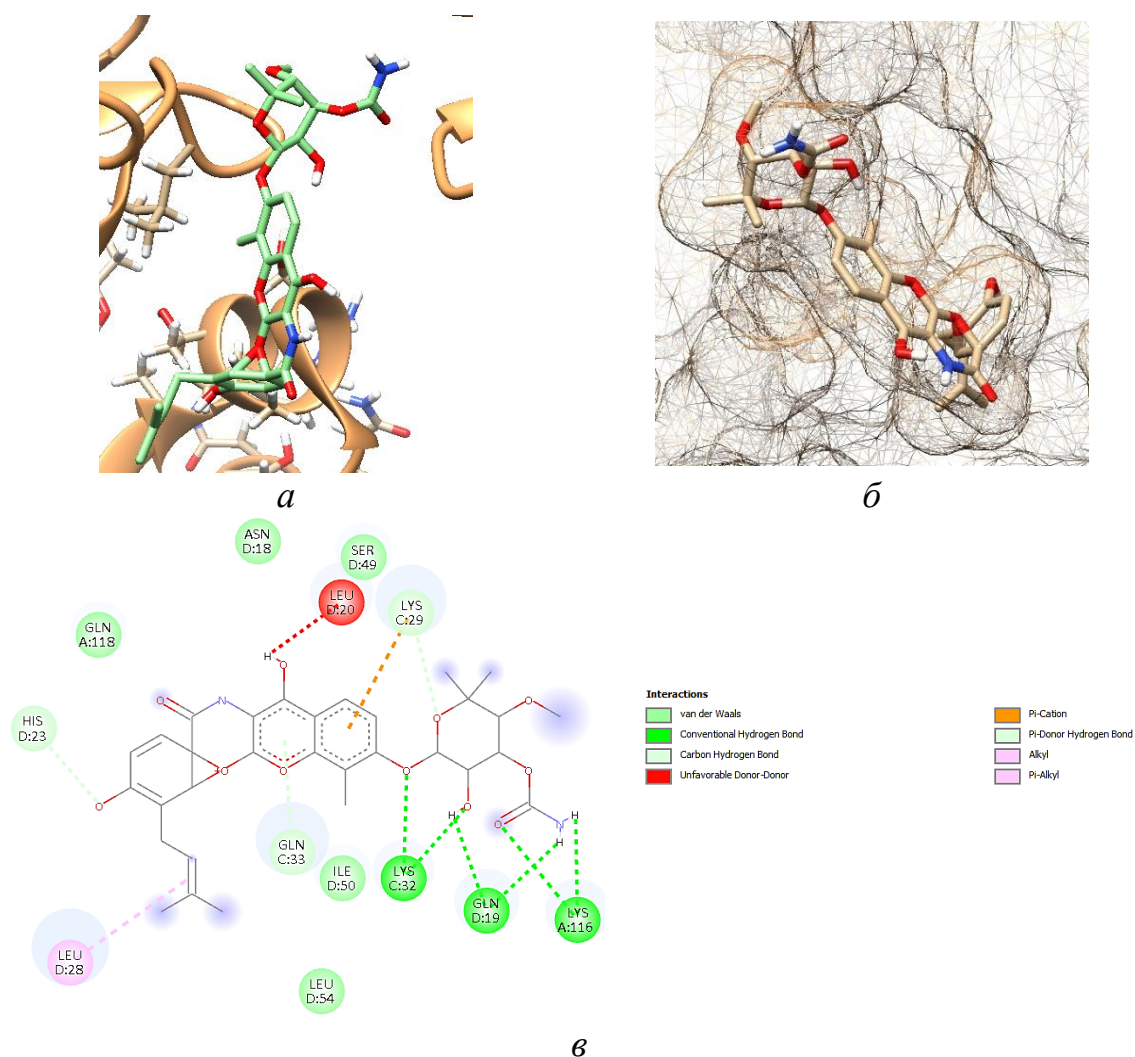


Рисунок 5 – Комплекс **новобиоцина** с белком-мишенью общим планом (а), в координации (б) и аминокислотное окружение (в)

Таким образом, расчетные данные свидетельствуют о высокой вероятности проявления синтезированными нами соединениями **4а-в** антибактериальных свойств относительно *S. aureus*.

4 Исследование токсичности производных бис(4-гидроксикумарина) (ADMET)

Нами было выполнено компьютерное прогнозирование (*in silico*), исследованы фармакокинетические характеристики азокрасителей **4а-в**, а также их токсические свойства с помощью онлайн-платформы ADMETlab 3.0. Модель ADMETlab 3.0 основана на методах машинного обучения. Алгоритм строится с помощью нейронной сети (DMPNN), которая обучена с использованием

огромных баз данных, включающих свыше трех миллионов органических молекул. Такой подход позволяет осуществлять быстрый и точный прогноз физико-химических свойств и различных показателей токсичности. Полученные результаты выражаются в виде вероятности: 1 указывает на высокую вероятность токсичности, а 0 – на отсутствие токсичных свойств. Результаты проведенного анализа приведены в таблице 4:

Таблица 4 – Результаты расчётов фармацевтической активности соединений **4а-в** и стандартных препаратов воруциклиба и новобиоцина

Соединения	Гепатотоксичность	Цитотоксичность Нек293	PPB, %	hERG	logP
4а	0,640	0,228	98,5	0,018	4,676
4б	0,666	0,366	98,3	0,023	4,822
4в	0,612	0,584	99,4	0,064	6,873
Воруциклиб	0,740	0,827	20,4	0,211	3,466
Новобиоцин	0,889	0,334	93,8	0,141	1,791

Анализ цитотоксического потенциала синтезированных соединений **4а-в** показал, что токсический эффект по отношению к здоровым клеткам Нек293 ниже в среднем на 52% по сравнению с воруциклибом. Самая низкая токсичность наблюдается у бискумарина **4а** (на 72%).

Наблюдается меньшая вероятность проявления кардио- и гепатотоксичности для бискумаринов **4а-в** по сравнению с воруциклибом и новобиоцином. Показаны повышенные значения липофильности молекул соединений **4а-в** и высокая вероятность их связывания с белком крови альбумином по сравнению со стандартами.

Полученные результаты свидетельствуют о перспективности дальнейшего исследования соединений **4а-в** для использования их в качестве флуоресцентных меток, обладающих противоопухолевым и антибактериальным потенциалом

Выводы

1. Осуществлен синтез азокрасителей на основе 4-гидрокси-2*H*-хромен-2-она;
2. Установлены состав и строение синтезированных соединений методами элементного анализа, ЯМР ^1H , ^{13}C спектроскопии, гетероядерной корреляции HSQC и HMBC;
3. Изучение флуоресцентных свойств полученных соединений показало перспективность их дальнейшего исследования в данном направлении;
4. Исследования *in silico* биологической активности синтезированных бискумаринов с помощью программы ADMETlab 3.0 и методом молекулярного докинга (Autodock Vina) показали высокую вероятность проявления противораковой и антибактериальной активностей.