

## СИНТЕЗ НОВЫХ 2-ОКСОЭТИЛИДЕНПИРРОЛО[3,2,1-*lj*] ХИНОЛИН-2-ОНОВ – ПОТЕНЦИАЛЬНЫХ ИНГИБИТОРОВ ФАКТОРА СВЕРТЫВАНИЯ КРОВИ Ха

А. А. Скопцова<sup>1</sup>, О. Ндимурукундо<sup>1</sup>, М. Ю. Крысин<sup>1</sup>, А. С. Шестаков<sup>1</sup>,  
В. Ф. Селеменев<sup>1</sup>, О. Б. Рудаков<sup>2</sup>, Х. С. Шихалиев<sup>1\*</sup>

<sup>1</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный университет»

<sup>2</sup> ФГБОУ ВО «Воронежский государственный технический университет»

Поступила в редакцию 02.07.2024 г.

**Аннотация.** Производные пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-онов уже зарекомендовали себя как перспективные молекулы в синтезе биологически активных соединений. В то же время молекула пиримидина является давно известным фармакофорным фрагментом и входит в структуру лекарственных препаратов, обладающих ярко выраженными успокоительными, противоопухолевыми, противовирусными, противовоспалительными, противопаразитарными и антигипертензивными свойствами. На основе принципов молекулярного дизайна указанные фрагменты нами были объединены в структуре одной молекулы. Сочетание разнообразных структурных фрагментов может достигаться за счет образования новой связи углерод-углерод. Одним из распространенных способов образования новой связи углерод-углерод является альдольно-кетоновая конденсация. Так, в ходе альдольно-кетоновой конденсации пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-диононов с замещенными 5-ацетилпиримидинами был синтезирован ряд новых 1-(2-(4-метилпиримидин-5-ил)-2-оксоэтилиден)-5,6-дигидро-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1*H*)-онов. Отмечено, что образование целевых продуктов осуществляется в два этапа. На первом этапе, проводимом в метаноле в условиях основного катализа с использованием триэтиламина, происходит образование промежуточных продуктов – соответствующих третичных спиртов, а на втором этапе – проводится их дегидратация в смеси уксусной и соляной кислот. Структуры синтезированных веществ подтверждены данными ВЭЖХ МС анализа, а также ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопии, свидетельствующих об образовании единственного геометрического изомера. На основе спектроскопических данных мы предполагаем, что синтезированные соединения, вероятно, были выделены в виде *E*-изомеров. Для всех полученных соединений проведен первичный скрининг *in vitro* ингибирующей активности в отношении фактора свертывания крови Ха. Для определения ингибирующей активности синтезированных веществ в отношении FXa было проведено измерение кинетики гидролиза специфичного к FXa низкомолекулярного хромогенного субстрата S2765 в присутствии тестируемых веществ. Скорость расщепления хромогенного субстрата фактором Ха в присутствии ингибитора была нормирована на скорость расщепления в отсутствие ингибитора. Показано, что полученные соединения проявляют умеренную антикоагулянтную активность. На основе полученных данных будут проводиться дальнейшие разработки в области молекулярного дизайна ингибиторов факторов свертывания крови нового поколения на основе пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-онового остова.

**Ключевые слова:** пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1*H*)-он, ацетилпиримидин, альдольно-кетоновая конденсация, антикоагулянтная активность, фактор Ха

Известно, что альдольно-кетоновая конденсация является одним из распространенных способов формирования новой связи углерод-углерод [1-6]. Данный способ часто применяется в молекулярном дизайне различных гибридных молекул,

где целью является объединение нескольких фармакофорных фрагментов в одной структуре [5,6].

Нами также был применен данный подход для молекулярного дизайна и синтеза новых гибридных структур, которые могли бы потенциально обладать антикоагулянтной активностью.

Различные функционально модифицированные пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2-оны ранее уже зарекомендовали себя как соединения, проявляющие

© Скопцова А. А., Ндимурукундо О., Крысин М. Ю., Шестаков А. С., Селеменев В. Ф., Рудаков О. Б., Шихалиев Х. С., 2024

высокую ингибирующую способность в отношении некоторых сериновых протеаз, в том числе и фактора свертывания крови Ха [3-11] – ключевой мишени для разработки новых эффективных и безопасных противотромбозных препаратов [12,13].

Наличие активной  $\beta$ -карбонильной группы в структуре пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-дионов позволяет включать данные молекулы в реакции с различными нуклеофильными агентами [3-6, 9-11, 14, 15]. Это направление является удобным и часто применяемым способом введения в молекулу пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-диона различных привилегированных фрагментов для создания соединений с выраженной биологической активностью. В частности, в реакции с  $\beta$ -карбонильной группой пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-диона часто вводят различные *S*-нуклеофилы [3-6, 9, 14].

В тоже время цикл пиримидина широко представлен в различных природных соединениях, а также входит в структуру многих лекарственных препаратов, проявляющих успокоительное, противоопухолевое, противовирусное, противовоспалительное, противопаразитарное, антигипертензивное действие [16]. У ряда функциональных производных пиримидина также обнаружена антикоагулянтная активность [17-20].

Целью данного исследования являлось получение на основе принципов молекулярного дизайна новых гибридных молекул, объединяющих в своей структуре привилегированные фрагменты пиримидина и пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1*H*)-она с последующей оценкой ингибирующей активности полученных соединений в отношении фактора Ха.

## МЕТОДИКА ЭКСПЕРИМЕНТА

Подтверждение индивидуальности выделенных соединений, а также контроль за ходом протекания реакций осуществляли методом ТСХ на пластинках Merck TLC Silicagel 60 F<sub>254</sub>, элюент – хлороформ–метанол (9:1). Проявление полученных хроматограмм – в УФ-свете и парах иода. Температуры плавления определяли на приборе Stuart SMP 30. Хроматографический анализ полученных соединений осуществлялся на хроматографе Agilent 1260 Infinity с масс-селективным детектором. В качестве детектора масс – время-пролетный детектор Agilent 6230 TOFLC/MS, ионизация электрораспылением. Спектр ЯМР <sup>1</sup>H снят на приборе Bruker AV600 SF=600,13 МГц при 20°C в ДМСО-d<sub>6</sub> с внутренним стандартом Me<sub>4</sub>Si. Химические сдвиги даны в единицах м.д. ( $\delta$ ) по отношению к Me<sub>4</sub>Si.

### Общая методика синтеза (E)-8-R<sub>1</sub>-6-R<sub>2</sub>-4,4,6-триметил-1-(2-(2-R<sub>3</sub>-4-метилпиримидин-5-ил)-2-оксоэтилиден)-5,6-дигидро-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1*H*)-онов (3а-е)

1,1 ммоль пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-диона **1а-е** и 1,11 ммоль соответствующего ацетилпиримидина **2а-е** растворяли в метаноле при кипячении в течение 5 мин, затем добавляли каталитическое количество триэтиламина и перемешивали при комнатной температуре до полного расходования исходных пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-1,2-дионов **1а-е** (контроль методом ТСХ, элюент хлороформ–метанол, 9:1). Из полученной смеси удаляли растворитель при помощи ротационного испарителя, в колбу добавляли уксусную кислоту в качестве растворителя и каталитическое количество соляной кислоты для проведения стадии дегидратации, полученную смесь перемешивали при 70°C в течение 4-5 часов. Продукты **3а-е** отфильтровывали и перекристаллизовали из этилацетата или выделяли и очищали при помощи колоночной хроматографии (элюент хлороформ–метанол, 10:1).

### (E)-8-метокси-4,4,6-триметил-1-(2-(4-метил-2-(4-метилпиперазин-1-ил)пиримидин-5-ил)-2-оксоэтилиден)-5,6-дигидро-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1*H*)-он (3а)

Коричневый порошок (64%). T<sub>пл</sub> = 210-212°C. Масс-спектр, найдено: m/z 476,2655 [M + H]<sup>+</sup>; вычислено для C<sub>27</sub>H<sub>33</sub>N<sub>5</sub>O<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>: 476,2658.

### (E)-4,4,6-триметил-8-этокси-1-(2-(4-метил-2-(пирролидин-1-ил)пиримидин-5-ил)-2-оксоэтилиден)-5,6-дигидро-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1*H*)-он (3б)

Темно коричневый порошок (72%). T<sub>пл</sub> = 211-213°C. Масс-спектр, найдено: m/z 461,2553 [M + H]<sup>+</sup>; вычислено для C<sub>27</sub>H<sub>32</sub>N<sub>4</sub>O<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>: 461,2549.

### (E)-1-(2-(2-(3,4-дигидроизохинолин-2(1*H*)-ил)-4-метилпиримидин-5-ил)-2-оксоэтилиден)-4,4,6-триметил-8-фтор-5,6-дигидро-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1*H*)-он (3с)

Красно-коричневый порошок (69%). T<sub>пл</sub> = 137-139°C. Масс-спектр, найдено: m/z 497,2352 [M + H]<sup>+</sup>; вычислено для C<sub>30</sub>H<sub>29</sub>FN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>: 497,2349.

### (E)-4,4,6-триметил-1-(2-(4-метил-2-морфолинопиримидин-5-ил)-2-оксоэтилиден)-8-хлор-5,6-дигидро-4*H*-пирроло[3,2,1-*ij*]хинолин-2(1*H*)-он (3д)

Красный порошок (58%). T<sub>пл</sub> = 148-150°C. <sup>1</sup>H ЯМР (600 МГц, DMSO-d<sub>6</sub>):  $\delta$  1.29 (3H, д, J = 6.8 Гц, C(6)CH<sub>3</sub>), 1.32 (3H, с, C(4)CH<sub>3</sub>), 1.51–1.56 (1H, м, H<sub>a</sub>(5)<sub>хин</sub>), 1.71 (3H, с, C(4)CH<sub>3</sub>), 1.88 (1H, дд, J = 13.9, 4.6 Гц, H<sub>b</sub>(5)<sub>хин</sub>), 2.63 (3H, с, CH<sub>3</sub><sub>пирим</sub>), 2.85 –

2.92 (1H, м, H(6)<sub>хнн</sub>), 3.66 (4H, т, J=4.9 Гц, 2CH<sub>2</sub><sub>2морф</sub>), 3.83-3.89 (4H, м, 2CH<sub>2</sub><sub>2морф</sub>), 7.19 (1H, с, H(7)<sub>хнн</sub>), 7.49 (1H, с, H(9)<sub>хнн</sub>), 7.56 (1H, с, C(O)CH), 8.81 (1H, с, H<sub>пирим</sub>). Масс-спектр, найдено: m/z 467,1849 [M + H]<sup>+</sup>; вычислено для C<sub>25</sub>H<sub>27</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>3</sub>+H<sup>+</sup>: 467,1846.

**(E)-4,4,6-триметил-1-(2-(4-метил-2-(пиперидин-1-ил)пиримидин-5-ил)-2-оксоэтилиден)-6-фенил-8-хлор-5,6-дигидро-4H-пирроло[3,2,1-ij]хинолин-2(1H)-он (3e)**

Оранжевый порошок (71%). T<sub>пл</sub>=118-120°C. Масс-спектр, найдено: m/z 541,2369 [M + H]<sup>+</sup>; вычислено для C<sub>32</sub>H<sub>33</sub>ClN<sub>4</sub>O<sub>2</sub>+H<sup>+</sup>: 541,2366.

#### Исследование антикоагулянтной активности

Антикоагулянтную активность исследовали в Центре коллективного пользования ЦТП ФХФ РАН «Современные методы экспериментальной биофизики». Для исследования ингибирования фактора свертывания крови Ха синтезированными соединениями измерялась кинетика гидролиза специфичного низкомолекулярного хромогенного субстрата S2765 в присутствии тестируемых веществ. В лунки 96-луночного планшета вносился буфер, содержащий 140 mM NaCl, 20 mM HEPES, 0.1% ПЭГ (6000), pH=8.0, добавлялся фактор Ха (конечная концентрация – 2.5 нМ), а также ингибиторы в концентрации 30 мкМ, ДМСО не более 2%. С помощью микропланшетного ридера THERMOMax Microplate Reader измерялась кинетика образования п-нитроанилина по поглощению конечным раствором света с длиной волны 405 нм. Скорость расщепления субстрата ферментом в присутствии ингибитора была нормирована на скорость расщепления в отсутствие ингибитора.

#### ОБСУЖДЕНИЕ РЕЗУЛЬТАТОВ

В настоящей работе описывается эффективный способ получения гибридных молекул, объединяющих в своей структуре фармакофор-

ные фрагменты пирроло[3,2,1-ij]хинолин-2-она и пиримидина посредством взаимодействия пирроло[3,2,1-ij]хинолин-1,2-дионов с замещенными 5-ацетилпиримидинами.

Для получения целевых 1-(2-(4-метилпиримидин-5-ил)-2-оксоэтилиден)-5,6-дигидро-4H-пирроло[3,2,1-ij]хинолин-2(1H)-онов исходные пирроло[3,2,1-ij]хинолин-1,2-дионы **1a-e** вводились во взаимодействие с замещенными 2-R<sub>3</sub>-5-ацетилпиримидинами **2a-e**. Для исследуемой реакции был осуществлен подбор наиболее подходящих условий. Установлено, что получение конечных илиденных систем **3a-e** лучшим образом достигается при проведении реакции в два этапа. Взаимодействие пирроло[3,2,1-ij]хинолин-1,2-дионов **1a-e** с замещенными 5-ацетилпиримидинами **2a-e** проводилось при перемешивании при комнатной температуре во избежание образования побочных продуктов, однако первоначальное растворение исходных реагентов достигалось непродолжительным кипячением реакционной смеси. Так, в среде метанола с добавлением триэтиламина в качестве основного катализатора проводимая реакция завершалась образованием промежуточных третичных спиртов **3'a-e**, выделения которых для проведения следующей стадии не требовалось. Дальнейшая обработка гидроксильных производных **3'a-e** уксусной кислотой с добавлением HCl приводила к отщеплению молекулы воды и образованию продуктов **3a-e** (схема 1).

Состав и строение полученных соединений **3a-e** подтверждаются данными ВЭЖХ МС анализа, а также ЯМР <sup>1</sup>H спектроскопии на примере соединения **3d**.

Так, в ЯМР <sup>1</sup>H спектре соединения **3d** наблюдается ряд характерных сигналов: сигналы метильных групп при 1.29, 1.32, 1.71, 2.63 м.д., сигналы метиленовых и метинового протонов хинолинового фрагмента в области 1.51-2.92 м.д.,

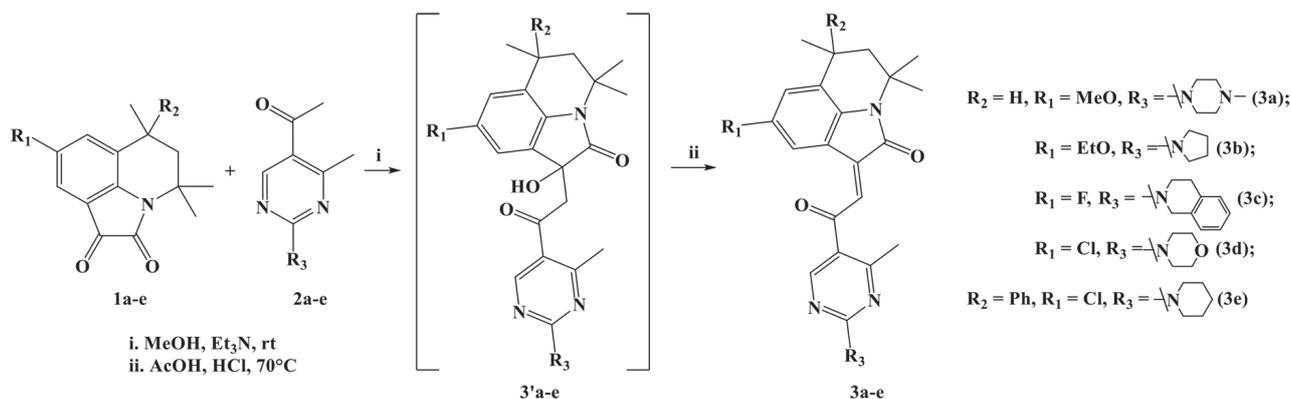


Схема 1

сигналы метиленовых протонов морфолина в области 3.66-3.89 м.д., синглеты двух ароматических протонов при 7.19-8.81 м.д., а также синглет илиденового протона при 7.56 м.д.

Для полученных систем характерна *E/Z*-изомерия. Согласно спектральным данным, выделенные соединения представляют собой единственный изомер, о чем свидетельствует единственный пик на хроматограммах, а также отсутствие дублирования характеристических сигналов протонов соединения **3d**. На спектре <sup>1</sup>H ЯМР мы наблюдаем резонирование протона в 9 положении пирроло[3,2,1-ij]хинолин-2-онового фрагмента при более высоких значениях химического сдвига в сравнении с протоном в 7 положении, вероятно, из-за влияния дезэкранирующего эффекта близкорасположенной карбонильной группы оксоилиденового фрагмента. На основании чего мы предполагаем, что наши соединения представляют собой *E*-изомер.

С целью установления ингибирующей способности полученных соединений **3a-e** в отношении фактора Ха был проведен первичный скрининг *in vitro*. Ингибирование фактора Ха синтезированными соединениями изучали путем измерения кинетики гидролиза хромогенного субстрата S2765 в присутствии этих соединений. Полученные данные приведены в таблице 1. Стоит отметить, что среди представленных структур самое высокое значение ингибирования было достигнуто для соединения **3b**.

Таблица 1

Данные ингибирующей активности по отношению к фактору свертывания крови Ха соединений **3a-e**

| Ингибитор  | 3a   | 3b   | 3c   | 3d   | 3e   |
|--|------|------|------|------|------|
| Активность фактора Ха в присутствии ингибитора/ активность фактора Ха без ингибитора, среднее (n=3), % | 63±2 | 62±5 | 76±3 | 79±6 | 70±3 |

## ЗАКЛЮЧЕНИЕ

Таким образом, была получена серия новых гибридных молекул – 1-(2-(4-метилпиримидин-5-ил)-2-оксоэтилиден)-5,6-дигидро-4*H*-пирроло[3,2,1-ij]хинолин-2(1*H*)-онов. Анализ антикоагулянтной активности в отношении фактора Ха показал, что данные структуры обладают умеренным ингибирующим действием. Полученные результаты будут использованы для дальнейших разработок в области целенаправленного

молекулярного дизайна ингибиторов факторов свертывания крови нового поколения на основе пирроло[3,2,1-ij]хинолин-2-оновой матрицы.

Авторы выражают благодарность Центру коллективного пользования ЦТП ФХФ РАН «Современные методы экспериментальной биофизики» и к.б.н. Подоплеловой Н.А. за изучение антикоагулянтной активности синтезированных соединений (<http://www.ctppcp.ru/ru/pages/%D0%A6%D0%9A%D0%9F>).

Работа выполнена при поддержке Министерства науки и высшего образования РФ в рамках государственного задания ВУЗам в сфере научной деятельности на 2022-2024 годы, проект № FZGU-2022-0003.

## СПИСОК ЛИТЕРАТУРЫ

- Rohman N. Preparation of azachalcone derivatives via l-proline/Et3N-catalyzed aldol condensation and study of their antioxidant potential / N. Rohman, B. Ardiansah, A.H. Cahyana // *MethodsX*. – 2023. – Vol. 11. – P. 102427.
- Pedzisa L. Enantio- and Diastereoselective (Ipc) 2BOTf-Mediated Aldol Reactions of Morpholine Carboxamides / L. Pedzisa, A. Monastyrskyi, C.D. Parker, W.R. Roush // *Helvetica Chimica Acta*. – 2023. – Vol. 106. – № 12. – P. e202300126.
- Новичихина Н. П. Синтез и антикоагулянтная активность новых этилиденовых и спиропроизводных пирроло[3,2,1-ij]хинолин-2-онов / Н. П. Новичихина, А. А. Скопцова, А. С. Шестаков, А. Ю. Потапов, Е. А. Кошелева, О. А. Козадеров, И. В. Леденева, Н. А. Подоплелова, М. А. Пантелеев, Х. С. Шихалиев // *Журнал органической химии*. – 2020. – Т. 56. – № 9. – С. 1376-1384.
- Скопцова А. А. Новые гибридные соединения, содержащие фрагменты пирроло[3,2,1-ij]хинолин-2-она и кумарина: синтез и оценка антикоагулянтных свойств / А. А. Скопцова, Н. П. Новичихина, Е. А. Кошелева, М. Ю. Крысин, С. В. Баранин, Х. С. Шихалиев // *Известия Академии наук. Серия химическая*. – 2023. – Т. 72. – № 12. – С. 2898-2907.
- Скопцова А. А. Синтез и исследование новых антикоагулянтных кандидатов на основе 6-арил-5,6-дигидро-4*H*-пирроло[3,2,1-ij]хинолин-1,2-диона / А. А. Скопцова, Н. П. Новичихина, Е. А. Кошелева, С. В. Баранин, Н. А. Подоплелова, М. А. Пантелеев, Х. С. Шихалиев // *Журнал общей химии*. – 2023. – Т. 93. – № S1. – С. S115-S123.
- Novichikhina N. Synthesis, Docking, and In Vitro Anticoagulant Activity Assay of Hybrid Derivatives of Pyrrolo[3,2,1-ij]Quinolin-2(1*H*)-one as New Inhibitors of Factor Xa and Factor XIa / N.

- Novichikhina, I. Ilin, A. Tashchilova, A. Sulimov, D. Kutov, I. Ledenyova, M. Krysin, Kh. Shikhaliev, A. Gantseva, E. Gantseva, N. Podoplelova // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25. – № 8. – P. 1889.
7. Медведева С. М. Синтез, докинг и антикоагулянтная активность новых ингибиторов фактора Ха в ряду производных пирроло[3,2,1-ij]хинолин-1,2-диона / С.М. Медведева, А.Ю. Потапов, И.В. Грибкова, Е.В. Каткова, В.Б. Сулимов, Х.С. Шихалиев // *Химико-фармацевтический журнал*. – 2017. – Т. 51. – № 11. – С. 19-23.
8. Sulimov V. B. Application of molecular modeling to development of new factor Xa inhibitors / V. B. Sulimov, I. V. Gribkova, M. P. Kochugaeva, E. V. Katkova, A. V. Sulimov, D. C. Kutov, K. S. Shikhaliev, S. M. Medvedeva, M. Y. Krysin, E. I. Sinauridze, F. I. Ataullakhanov // *BioMed Research International*. – 2015. – Vol. 1. – P. 120802.
9. Novichikhina N. P. New Hybrid Tetrahydropyrrolo[3,2,1-ij]quinolin-1-ylidene-2-thioxothiazolidin-4-ones as New Inhibitors of Factor Xa and Factor XIa: Design, Synthesis, and In Silico and Experimental Evaluation / N. P. Novichikhina, A. S. Shestakov, S. M. Medvedeva, A. M. Lagutina, M. Y. Krysin, N. A. Podoplelova, M. A. Panteleev, I. S. Ilin, A. V. Sulimov, A. S. Tashchilova, V. B. Sulimov // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28. – № 9. – P. 3851.
10. Skoptsova A. A. Design, Synthesis, and Evaluation of New Hybrid Derivatives of 5,6-Dihydro-4H-pyrrolo[3,2,1-ij]quinolin-2(1H)-one as Potential Dual Inhibitors of Blood Coagulation Factors Xa and XIa / A. A. Skoptsova, A. Geronikaki, N. P. Novichikhina, A. V. Sulimov, I. S. Ilin, V. B. Sulimov, G. A. Bykov, N. A. Podoplelova, O. V. Pyankov, K. S. Shikhaliev // *Molecules*. – 2024. – Vol. 29. – № 2. – P. 373.
11. Новичихина Н. П. Синтез и свойства новых гибридных молекул, содержащих фрагменты 4H-пирроло[3,2,1-ij]хинолин-2-она и тиазола / Н. П. Новичихина, З. Э. Ашрафова, Н. В. Столповская, И. В. Леденева, М. Г. Холявка, Н. А. Подоплелова, М. А. Пантелеев, Х. С. Шихалиев // *Известия академии наук, серия химическая*. – 2022. – № 9. – С. 1969-1975.
12. Walenga J. M. Factor Xa inhibitors: today and beyond / J. M. Walenga, W. P. Jeske, D. Hoppensteadt, J. Fareed // *Current opinion in investigational drugs*. – 2003. – Vol. 4. – № 3. – P. 272-281.
13. Borensztajn K. Factor Xa: at the crossroads between coagulation and signaling in physiology and disease / K. Borensztajn, M.P. Peppelenbosch, C.A. Spek, // *Trends in molecular medicine*. 2008. – Vol. 14. – № 10. – P. 429-440.
14. Mazaheri F. Spiro [3H-pyrazole-3,3'-oxindoles] Derived from 1,2,3,4-Tetrahydroquinoline / F. Mazaheri, B. E. Saatluo, M. M. Baradarani, J. A. Joule // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. – 2017. – Vol. 54. – № 1. – P. 147-150.
15. Kartsev V. Appendix A. dithioloquinolinethiones as new potential multitargeted antibacterial and antifungal agents: Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies / V. Kartsev, K. S. Shikhaliev, A. Geronikaki, S. M. Medvedeva, I. V. Ledenyova, M. Y. Krysin, A. Petrou, A. Ciric, J. Glamoclija, M. Sokovic // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2019. – Vol. 175. – P. 201-214.
16. Носова, Э.В. Биологически активные вещества гетероциклической природы : учеб. пособие / Э. В. Носова ; М-во науки и высш. образования Рос. Федерации, Урал. федер. ун-т. Екатеринбург: Изд-во Урал. ун-та, 2019. – 144 с.
17. Wong P. C. Milvexian, an orally bioavailable, small-molecule, reversible, direct inhibitor of factor XIa: in vitro studies and in vivo evaluation in experimental thrombosis in rabbits. / P. C. Wong, E. J. Crain, J. M. Bozarth, Y. Wu, A. K. Dilger, R. R. Wexler, W. R. Ewing, D. Gordon, J. M. Luetzgen // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2022. – Vol. 20. – № 2. – P. 399-408.
18. Debbabi M. Design and synthesis of novel potent anticoagulant and anti-tyrosinase pyranopyrimidines and pyranotriazolopyrimidines: Insights from molecular docking and SAR analysis. / M. Debbabi, V.D. Nimbarte, S. Chekir, S. Chortani, A. Romdhane // *Bioorganic Chemistry*. – 2019. – Vol. 82. – P. 129-138.
19. Ogawa J. Experimental and clinical study of interactions between fluorinated pyrimidine derivatives and anticoagulants / J. Ogawa, H. Inoue, S. Koide, S. Kawada, A. Shohtsu, // *Gan to Kagaku ryoho. Cancer & Chemotherapy*. – 1988. – Vol. 15. – № 8. – P. 2265-2271.
20. Weitz J. I. Milvexian for the prevention of venous thromboembolism / J. I. Weitz, J. Strony, W. Ageno, D. Gailani, E. M. Hylek, M. R. Lassen, K. W. Mahaffey, R. S. Notani, R. Roberts, A. Segers, G. E. Raskob // *New England Journal of Medicine*. – 2021. – Vol. 385. – № 23. – P. 2161-2172.

Воронежский государственный университет  
Скоптова Анна Александровна, аспирант кафедры органической химии  
E-mail: annk0611@mail.ru

Voronezh State University  
Skoptsova Anna Aleksandrovna, post-graduate student, Department of the Organic Chemistry  
E-mail: annk0611@mail.ru

Ндимурुकундо Оскар, студент кафедры органической химии  
E-mail: ndimurucundo2021@gmail.com

Ndimurukundo Oscar, student, Department of the Organic Chemistry  
E-mail: ndimurucundo2021@gmail.com

Крысин Михаил Юрьевич, доктор химических наук, профессор кафедры органической химии  
E-mail: kaf261@rambler.ru

Krysin Mikhail Yurevich, PhD., DSci, professor of the Department of Organic Chemistry  
E-mail: kaf261@rambler.ru

Шестаков Александр Станиславович, доктор химических наук, заведующий кафедрой высокомолекулярных соединений и коллоидной химии,  
E-mail: shestakov@chem.vsu.ru

Shestakov Alexander Stanislavovich, PhD., DSci, head of the Department of High Molecular Compounds and Colloid Chemistry  
E-mail: shestakov@chem.vsu.ru

Селеменев Владимир Федорович, доктор химических наук, профессор кафедры аналитической химии  
E-mail: common@chem.vsu.ru

Selemenev Vladimir Fedorovich, PhD., DSci, Department of Analytical Chemistry  
E-mail: common@chem.vsu.ru

\*Шихалиев Хидмет Сафарович, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой органической химии  
E-mail: shikh1961@yandex.ru

\*Shikhaliev Khidmet Safarovich PhD., DSci., head of the Department of Organic Chemistry  
E-mail: shikh1961@yandex.ru

Voronezh State Technical University  
Рудаков Олег Борисович, доктор химических наук, профессор, заведующий кафедрой химии и химической технологии материалов  
E-mail: robi57@mail.ru

Voronezh State Technical University  
Rudakov Oleg Borisovich, PhD., DSci., head of the Department of Chemistry and Chemical Technology of Materials  
E-mail: robi57@mail.ru

## PREPARATION OF NEW 2-OXOETHYLIDENEPYRROLO[3,2,1-*IJ*]QUINOLIN-2-ONES – POTENTIAL INHIBITORS OF BLOOD COAGULATION FACTOR Xa

A.A. Skoptsova<sup>1</sup>, O. Ndimurukundo<sup>1</sup>, M.Yu. Krysin<sup>1</sup>, A.S. Shestakov<sup>1</sup>, V.F. Selemenev<sup>1</sup>, O.B. Rudakov<sup>2</sup>, Kh.S. Shikhaliev<sup>1</sup>

<sup>1</sup>Voronezh State University

<sup>2</sup>Voronezh State Technical University

**Abstract.** Derivatives of pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-ones have already shown themselves as promising molecules in the synthesis of biologically active compounds. At the same time, the pyrimidine molecule is a well-known pharmacophoric fragment of drugs that exhibit pronounced sedative, anticancer, antiviral, anti-inflammatory, antiparasitic, and antihypertensive properties. Based on the principles of molecular design, we have combined these fragments into the structure of one molecule. The combination of various structural fragments can be achieved through the formation of a new carbon-carbon bond. One of the common methods for forming a new carbon-carbon bond is the aldol condensation. Thus, during the aldol condensation, a series of novel 1-(2-(4-methylpyrimidin-5-yl)-2-oxoethylidene)-5,6-dihydro-4H-

pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2(1*H*)-ones were synthesized by the reaction of pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1,2-diones with substituted 5-acetylpyrimidines. It has been noted that the formation of the target products occurs in two stages. At the first stage, the reaction was carried out in methyl alcohol under basic catalysis conditions using triethylamine, leading to the formation of intermediate products - corresponding tertiary alcohols. Subsequently, in the second stage, the dehydration of these intermediates was conducted in a mixture of acetic and hydrochloric acid. The structures of the synthesized compounds were confirmed by HPLC MS analysis and <sup>1</sup>H NMR spectroscopy, indicating the formation of a single geometric isomer. Based on the spectroscopic data, we suggest that the synthesized compounds were isolated as *E*-isomers. A primary *in vitro* screening of inhibitory activity against blood coagulation factor Xa was performed for all synthesized compounds. Measurement of the hydrolysis kinetics of a specific low molecular weight chromogenic substrate S2765 by FXa in the presence of the tested substances was carried out to determine the inhibitory activity of the synthesized compounds against FXa. The rate of chromogenic substrate cleavage by factor Xa in the presence of an inhibitor was normalized to the cleavage rate in the absence of the inhibitor. It was demonstrated that the obtained compounds exhibit moderate anticoagulant activity. Based on the obtained data, further developments in the field of molecular design of new generation blood coagulation factor inhibitors will be conducted using a pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-one scaffold.

**Keywords:** pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2(1*H*)-one, acetylpyrimidine, aldol condensation, anticoagulant activity, factor Xa

## REFERENCES

1. Rohman N. Preparation of azachalcone derivatives via l-proline/Et<sub>3</sub>N-catalyzed aldol condensation and study of their antioxidant potential / N. Rohman, B. Ardiansah, A.H. Cahyana // *MethodsX*. – 2023. – Vol. 11. – P. 102427.
2. Pedzisa L. Enantio- and Diastereoselective (Ipc) 2BOTf-Mediated Aldol Reactions of Morpholine Carboxamides / L. Pedzisa, A. Monastyrskyi, C.D. Parker, W.R. Roush // *Helvetica Chimica Acta*. – 2023. – Vol. 106. – № 12. – P. e202300126.
3. Novichikhina N. P. Synthesis and anticoagulant activity of new ethylidene and spiro derivatives of Pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-ones / N. P. Novichikhina, A. A. Skoptsova, A. S. Shestakov, A. Y. Potapov, E. A. Kosheleva, O. A. Kozaderov, I. V. Ledenyova, N. A. Podoplelova, M. A. Panteleev, K. S. Shikhaliev // *Russian Journal of Organic Chemistry*. – 2020. – Vol. 56. – P. 1550-1556.
4. Skoptsova A. A. New hybrid compounds bearing pyrrolo [3, 2, 1-*ij*] quinolin-2-one and coumarin motifs. Synthesis and evaluation of anticoagulant activity / A. A. Skoptsova, N. P. Novichikhina, E. A. Kosheleva, M. Y. Krysin, S. V. Baranin, K. S. Shikhaliev // *Russian Chemical Bulletin*. – 2023. – Vol. 72. – № 12. – P. 2898-2907.
5. Skoptsova A. A. Synthesis and Study of New Anticoagulant Candidates Based on 6-Aryl-5,6-dihydro-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinoline-1,2-diones / A. A. Skoptsova, N. P. Novichikhina, E. A. Kosheleva, S. V. Baranin, N. A. Podoplelova, M. A. Panteleev, K. S. Shikhaliev // *Russian Journal of General Chemistry*. – 2023. – Vol. 93. – Suppl 1. – P. S115-S123.
6. Novichikhina N. Synthesis, Docking, and In Vitro Anticoagulant Activity Assay of Hybrid Derivatives of Pyrrolo[3,2,1-*ij*]Quinolin-2(1*H*)-one as New Inhibitors of Factor Xa and Factor XIa / N. Novichikhina, I. Ilin, A. Tashchilova, A. Sulimov, D. Kutov, I. Ledenyova, M. Krysin, Kh. Shikhaliev, A. Gantseva, E. Gantseva, N. Podoplelova // *Molecules*. – 2020. – Vol. 25. – № 8. – P. 1889.
7. Medvedeva S. M. Synthesis, docking, and anticoagulant activity of new factor-Xa inhibitors in a series of pyrrolo [3,2,1-*ij*] quinoline-1, 2-diones / S. M. Medvedeva, A. Y. Potapov, I. V. Gribkova, E. V. Katkova, V. B. Sulimov, K. S. Shikhaliev // *Pharmaceutical Chemistry Journal*. – 2018. – Vol. 51. – P. 975-979.
8. Sulimov V. B. Application of molecular modeling to development of new factor Xa inhibitors / V. B. Sulimov, I. V. Gribkova, M. P. Kochugaeva, E. V. Katkova, A. V. Sulimov, D. C. Kutov, K. S. Shikhaliev, S. M. Medvedeva, M. Y. Krysin, E. I. Sinauridze, F. I. Ataulakhanov // *BioMed Research International*. – 2015. – Vol. 1. – P. 120802.
9. Novichikhina N. P. New Hybrid Tetrahydropyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-1-ylidene-2-thioxothiazolidin-4-ones as New Inhibitors of Factor Xa and Factor XIa: Design, Synthesis, and In Silico and Experimental Evaluation / N. P. Novichikhina, A. S. Shestakov, S. M. Medvedeva, A. M. Lagutina, M. Y. Krysin, N. A. Podoplelova, M. A. Panteleev, I. S. Ilin, A. V. Sulimov, A. S. Tashchilova, V. B. Sulimov // *Molecules*. – 2023. – Vol. 28. – № 9. – P. 3851.
10. Skoptsova A. A. Design, Synthesis, and Evaluation of New Hybrid Derivatives of 5,6-Dihydro-4*H*-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2(1*H*)-one

as Potential Dual Inhibitors of Blood Coagulation Factors Xa and XIa / A. A. Skoptsova, A. Geronikaki, N. P. Novichikhina, A. V. Sulimov, I. S. Ilin, V. B. Sulimov, G. A. Bykov, N. A. Podoplelova, O. V. Pyankov, K. S. Shikhaliev // *Molecules*. – 2024. – Vol. 29. – № 2. – P. 373.

11. Novichikhina N.P. Synthesis and properties of novel hybrid molecules bearing 4H-pyrrolo[3,2,1-*ij*]quinolin-2-one and thiazole moieties / N. P. Novichikhina, Z. E. Ashrafova, N. V. Stolpovskaya, I. V. Ledenyova, M. G. Kholyavka, N. A. Podoplelova, M. A. Pantelev, K. S. Shikhaliev // *Russian Chemical Bulletin*. – 2022. – Vol. 71. – № 9. – P. 1969-1975.

12. Walenga J. M. Factor Xa inhibitors: today and beyond / J. M. Walenga, W. P. Jeske, D. Hoppensteadt, J. Fareed // *Current opinion in investigational drugs*. – 2003. – Vol. 4. – № 3. – P. 272-281.

13. Borensztajn K. Factor Xa: at the crossroads between coagulation and signaling in physiology and disease / K. Borensztajn, M.P. Peppelenbosch, C.A. Spek, // *Trends in molecular medicine*. 2008. – Vol. 14. – № 10. – P. 429-440.

14. Mazaheri F. Spiro [3H-pyrazole-3,3'-oxindoles] Derived from 1,2,3,4-Tetrahydroquinoline / F. Mazaheri, B .E. Saatluo, M. M. Baradarani, J. A. Joule // *Journal of Heterocyclic Chemistry*. – 2017. – Vol. 54. – № 1. – P. 147-150.

15. Kartsev V. Appendix A. dithioquinolinethiones as new potential multitargeted antibacterial and antifungal agents: Synthesis, biological evaluation and molecular docking studies / V. Kartsev, K. S. Shikhaliev, A. Geronikaki, S. M. Medvedeva, I. V. Ledenyova, M. Y. Krysin, A. Petrou, A. Ciric, J. Glamoclija, M. Sokovic // *European Journal of Medicinal Chemistry*. – 2019. – Vol. 175. – P. 201-214.

16. Nosova E. V. *Biologicheski aktivnye veshchestva geterotsiklicheskoj prirody: uchebnoe posobie [Biologically Active Substances of Heterocyclic Nature: Textbook]*. Ekaterinburg, Izdvo Ural. un-ta, 2019. – 144 p. (in Russian).

17. Wong P. C. Milvexian, an orally bioavailable, small-molecule, reversible, direct inhibitor of factor XIa: in vitro studies and in vivo evaluation in experimental thrombosis in rabbits. / P. C. Wong, E. J. Crain, J. M. Bozarth, Y. Wu, A. K. Dilger, R. R. Wexler, W. R. Ewing, D. Gordon, J. M. Luetgen // *Journal of Thrombosis and Haemostasis*. – 2022. – Vol. 20. – № 2. – P. 399-408.

18. Debbabi M. Design and synthesis of novel potent anticoagulant and anti-tyrosinase pyranopyrimidines and pyranotriazolopyrimidines: Insights from molecular docking and SAR analysis. / M. Debbabi, V.D. Nimbarte, S. Chekir, S. Chortani, A. Romdhane // *Bioorganic Chemistry*. – 2019. – Vol. 82. – P. 129-138.

19. Ogawa J. Experimental and clinical study of interactions between fluorinated pyrimidine derivatives and anticoagulants / J. Ogawa, H. Inoue, S. Koide, S. Kawada, A. Shohtsu, // *Gan to Kagaku ryoho. Cancer & Chemotherapy*. – 1988. – Vol. 15. – № 8. – P. 2265-2271.

20. Weitz J. I. Milvexian for the prevention of venous thromboembolism / J. I. Weitz, J. Strony, W. Ageno, D. Gailani, E. M. Hylek, M. R. Lassen, K. W. Mahaffey, R. S. Notani, R. Roberts, A. Segers, G. E. Raskob // *New England Journal of Medicine*. – 2021. – Vol. 385. – № 23. – P. 2161-2172.