

Борисова Светлана Васильевна

**РЕАКЦИИ 1,3-ДИПОЛЯРНОГО
ЦИКЛОПРИСОЕДИНЕНИЯ В СИНТЕЗЕ
СПИРОСОЧЛЕНЁННЫХ ПИРРОЛИДИНОВ
И ПИРРОЛИЗИДИНОВ**

1.4.3. Органическая химия

Автореферат
на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Саратов 2023

Работа выполнена в Федеральном государственном бюджетном образовательном учреждении высшего образования «Саратовский национальный исследовательский государственный университет имени Н.Г. Чернышевского»

Научный руководитель:

доктор химических наук, профессор
Сорокин Виталий Викторович

Официальные оппоненты:

Гейн Владимир Леонидович
доктор химических наук, профессор,
ФГБОУ ВО «Пермская государственная
фармацевтическая академия» Министерства
здравоохранения Российской Федерации,
заведующий кафедрой общей и органической
химии

Пурыгин Петр Петрович
доктор химических наук, профессор,
ФГАОУ ВО «Самарский национальный
исследовательский университет имени
академика С.П. Королева» профессор
кафедры неорганической химии

Ведущая организация

**ФГБОУ ВО «Астраханский
государственный университет
имени В. Н. Татищева», г. Астрахань**

Защита состоится 21 сентября 2023 года в 16:00 часов на заседании диссертационного совета 24.2.392.03, созданного на базе ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского», по адресу: 410012, г. Саратов, ул. Астраханская, 83, корп. I, Институт химии.

С диссертацией можно ознакомиться в Зональной научной библиотеке имени В.А. Артисевич ФГБОУ ВО «СГУ имени Н.Г. Чернышевского» (410012, г. Саратов, ул. Университетская, д. 42) и на сайте <https://www.sgu.ru/research/dissertation-council/24-2-392-03/kandidatskaya-dissertaciya-borisovoy-svetlany>.

Автореферат разослан «__» июля 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета

Русанова Т.Ю.

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность работы. Spiro(гетеро)циклические соединения привлекают к себе возрастающее внимание вследствие биоактивности и метаболической стабильности. Наличие общего sp^3 -гибридного атома углерода обеспечивает компактное расположение циклов в пространстве, благоприятно влияющее на их взаимодействие с активными центрами ферментов и рецепторов. Высокой перспективностью отличаются спиросочленённые пирроли(зи)дины, природные и синтетические представители которых обладают антибактериальной, противовирусной, противогрибковой, противоопухолевой, противовоспалительной и другими видами биологической активности.

Для синтеза подобных систем могут применяться реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азометин-илидов, полученных конденсацией оксо(гетеро)циклических соединений и N-нуклеофилов и способных реагировать с диполярофилами в момент образования. Являясь согласованными процессами, эти реакции отличаются простотой проведения, регио- и стереоселективностью, отсутствием необходимости применения катализаторов.

Ранее на кафедре органической и биорганической химии СГУ в качестве диполярофилов изучались (ди)илиденкетоны, в том числе биологически активные, приводящие к биологически активным спирогетероциклам. Использование новых гетариларилиденкетонов и бензилиденмалонитрилов в качестве диполярофилов, а также изатина, нингидрина и его производных в качестве карбонильных соединений, позволяет значительно расширить продукты циклоприсоединения за счёт ранее неизвестных спиросочленённых пирроли(зи)динов и обуславливает актуальность работы. Возможность получать продукты с определённым (стерео)расположением заместителей в зависимости от исходных компонентов и условий реакции, сопоставление результатов с известными закономерностями 1,3-диполярного циклоприсоединения илидов, выявление спектральных особенностей продуктов обуславливают научный интерес и теоретическую значимость работы в данном направлении. В связи с этим требуется детальная проработка синтетической и теоретической части исследований, в частности: обоснование выбора новых диполярофилов, а также объяснение причин получения продуктов определённого состава и строения.

Целью работы является разработка подходов к регио- и стереонаправленному синтезу спиросочленённых пирролидинов и пирролизидинов на основе 1,3-диполярного циклоприсоединения азометин-илидов и диполярофилов.

Научная новизна.

Впервые осуществлён синтез ряда новых спиропирроли(зи)динов по реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с участием 1-гетероил-3-арилпроп-2-енонов, а также илиденмалонитрилов с различными азометин-илидами.

Показано, что строение продуктов взаимодействия 1-гетероил-3-арилпроп-2-енонов и азометин-илидов не зависит от типа гетероциклического заместителя, наибольшее влияние на время реакции и выходы продуктов оказывает строение использованного диполя.

Доказано, что первоначально образующиеся продукты 1,3-диполярного циклоприсоединения азометин-илидов и бензилиденмалононитрилов – замещённые спиро[индолин-3,3'-пирролизидин]-дикарбонитрилы – претерпевают в растворе дальнейшие превращения в диастереомеры или региоизомеры в зависимости от условий. Предложены вероятные схемы протекающих реакций, включающие ретро-диполярное циклоприсоединение и реакцию ретро-Манниха. Найденные закономерности использованы для разработки направленного получения изомерных спиро[индолин-3,3'-пирролизидин]-дикарбонитрилов.

Проведено исследование полученных соединений с помощью молекулярного докинга по отношению к E3-убиквитинлигазе MDM2, на основе систематизированных результатов сделаны выводы об эффективности взаимодействия в зависимости от строения продуктов.

Практическая значимость.

Разработаны препаративные эффективные методики диастереоселективного синтеза новых гетероциклических гибридных систем, сочетающих фармакофорные фрагменты индола, инденохиноксалина, пятичленных гетероциклов и спиропирроли(зи)дина. Предложенные методики не требуют применения катализаторов и труднодоступных растворителей и приводят к получению продуктов с хорошими и высокими выходами. Синтезированные соединения представляют интерес для дальнейшего изучения в качестве действующих веществ противораковых препаратов, выявлены наиболее перспективные кандидаты.

На защиту выносятся результаты исследования:

- Синтез продуктов реакции азометин-илидов на основе изатина, нингидрина, инденохиноксалинов и α -аминокислот, а также бензиламина с электрофильными алкенами.
- Вероятные схемы образования новых спиросочленённых пирролидинов и пирролизидинов в зависимости от использованных исходных реагентов и условий реакции.
- Изомерные превращения спиро[индолин-3,3'-пирролизидин]-дикарбонитрилов в растворах и вероятные схемы протекающих процессов.
- Результаты расчётов с помощью молекулярного докинга устойчивости комплекса продуктов и белка MDM2 и анализа полученных данных.

Личный вклад автора. Все результаты диссертационной работы получены автором лично. Вклад состоит в анализе литературных данных по теме исследования, постановке задач, планировании, разработке и проведении экспериментальных работ.

Апробация работы. Основные результаты работы представлялись на международных и российских конференциях: 8-й Международной научно-методической конференции «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств» (Воронеж 2022), Всероссийской молодежной конференции «Проблемы и достижения химии кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений» (Уфа 2022, 2021), Международном симпозиуме «Проблемы оптической физики и биофотоники SFM» (Саратов 2020, 2021), XIII Всероссийской конференции молодых

ученых с международным участием «Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии» (Саратов 2021, 2020), XXVII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2020» (Москва, 2020), II Всероссийской конференции с международным участием «Химия биологически активных веществ» (Саратов 2019), XXI Менделеевском съезде по общей и прикладной химии (Санкт-Петербург 2019).

Публикации. По теме диссертации опубликовано 14 научных работ, из них: 4 статьи в журналах, входящих в перечень ВАК, 5 статей в сборниках научных трудов, 5 тезисов докладов.

Объем и структура работы. Диссертация изложена на 151 странице машинописного текста, включая введение, три главы, выводы, список использованных источников из 148 наименований, 22 таблицы, 18 рисунков.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1 СИНТЕЗ СПИРОСОЧЛЕНЁННЫХ ПИРРОЛИ(ЗИ)ДИНОВ ПУТЁМ [3+2] ЦИКЛОПРИСОЕДИНЕНИЯ АЗОМЕТИН-ИЛИДОВ К ДИПОЛЯРОФИЛАМ С АРИЛЭТЕНОВЫМ ФРАГМЕНТОМ

Для изучения особенностей регио- и диастереонаправленности 1,3-диполярного циклоприсоединения азометин-илидов, получаемых конденсацией изатина, а также 1H-индено[1,2-b]хиноксалин-11-она, нингидрина и некоторых N-нуклеофилов, выбраны алкены, содержащие заместители с ярко выраженными электронными эффектами: 1-гетероил-3-арилпроп-2-еноны и бензилиденмалонитрилы. Выбранные диполи и диполярофилы приведены на схеме 1.1.

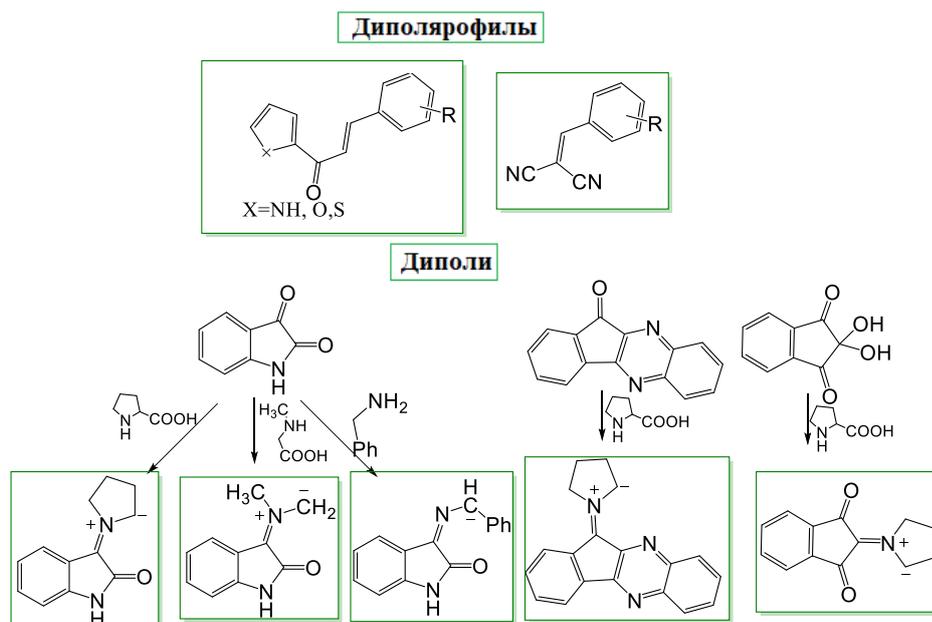
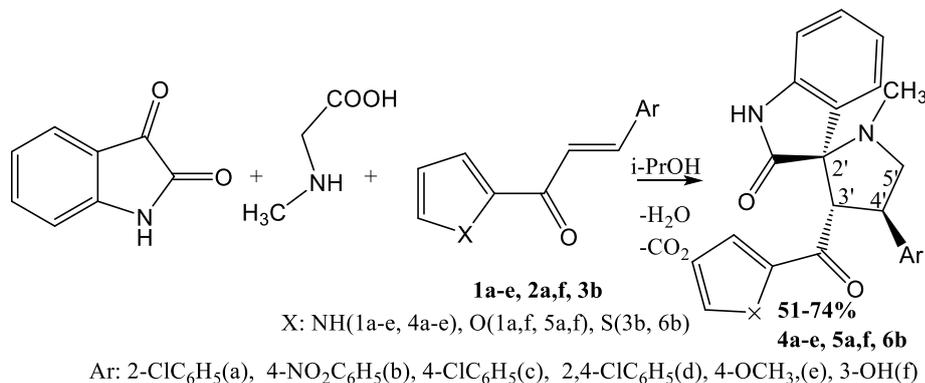


Схема 1.1 - Диполи и диполярофилы, использованные в работе

1.1 Реакции 1-гетероил-3-арилпроп-2-енонов с илидами на основе изатина и саркозина

В реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азометин-илидов, полученных конденсацией изатина и саркозина, в качестве диполярофилов использованы (*E*)-1-гетероил-3-арилпроп-2-еноны - арилиденпроизводные 2-ацетилпиррола (**1a-e**), 2-ацетилфурана (**2a,f**) и 2-ацетилтиофена (**3b**). Конфигурация исходных енонов подтверждена данными ЯМР спектроскопии и совпадает с описанной для подобных соединений в литературе.



Взаимодействие протекает при смешивании эквимольных количеств енона, изатина и саркозина в среде изопропилового спирта при 60-70°C с образованием 1'-метил-4'-арил-3'-гетероарилспиро[индолин-3,2'-пирролидин]-2-онов **4a-e**, **5a,f**, **6b**, отличающихся вицинальными арильным и гетероильным заместителями в пирролидиновом в кольце.

Строение продуктов циклоприсоединения подтверждено методами ЯМР ¹H, ¹³C, HSQC, HMBC, NOESY-2D спектроскопии.

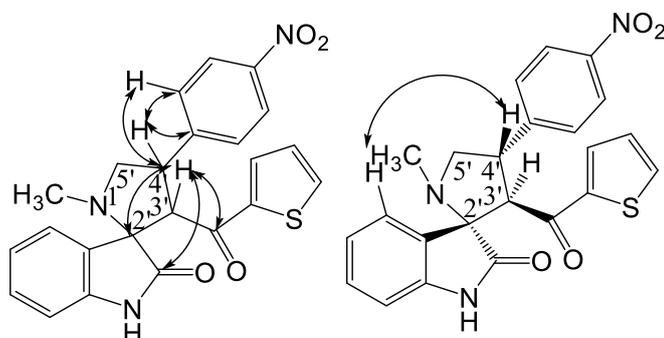


Рисунок 1.1.1 –основные корреляции в ЯМР ¹H/¹³C HMBC спектре, NOESY-2D продукта **6b**

Отсутствие в спектре 2D ¹H-¹H NOESY (рисунок 1.1.1.) корреляции между протонами при 3'-CH и 4'-CH пирролидинового цикла говорит об их трансoidalном расположении, соответствующем таковому в исходных диполярофилах – (*E*)-1-гетероил-3-арилпроп-2-енонах. Наличие кросс-пика между 4'-CH и протоном окоиндольного фрагмента свидетельствует о трансoidalном положении оксоиндольного и фенильного фрагментов.

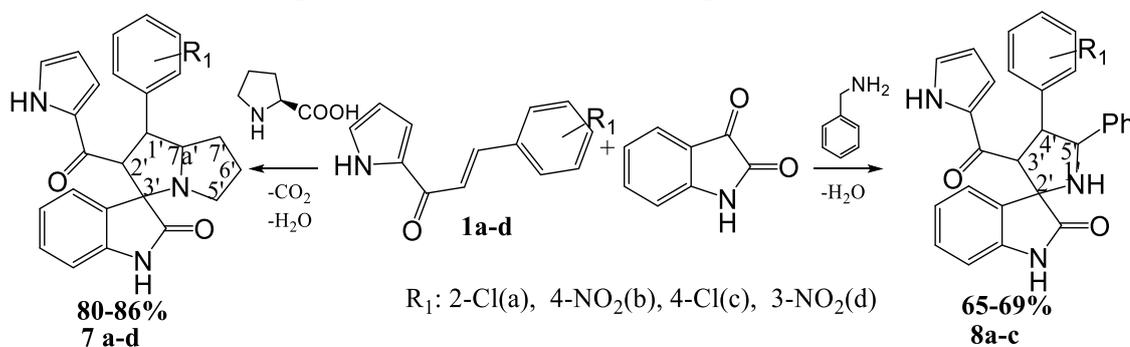
Подобное строение продуктов свидетельствует о согласованном характере циклоприсоединения азометин-илидов и енонов, который прослеживается и в реакциях, изученных далее с другими диполями.

Установлено, что в качестве диполярофилов среди енонов с различными гетероциклическими заместителями лучше всего зарекомендовали себя 1-пирролил-3-арилпроп-2-еноны, позволяющие получать конечные продукты за 3-4 часа с хорошими выходами. Поэтому далее в работе в качестве гетероиленонов изучались пирролилзамещённые представители.

1.2 Реакции 1-пиррол-2-ил-3-арилпроп-2-енонов с илидами на основе изатина и других N-нуклеофилов

Следующим этапом работы является изучение циклоприсоединения диполярофилов (*E*)-1-(пиррол-2-ил)-3-арилпроп-2-енонов **1a-d** и диполей, образующихся из изатина и других N-нуклеофилов: пролина, бензиламина.

Взаимодействие эквимольной смеси реагентов в среде изопропилового спирта при 60-70°C приводит к образованию соответственно 1'-арил-2'-пирролил-1',2',5',6',7',7a'-гексагидроспиро[индолин-3,3'-пирролизин]-2-онов **7a-d** и 4'-арил-5'-фенил-3'-пирролилспиро[индолин-3,2'-пирролидинов]-2-онов **8a-c**.



Реакция с пролином протекает 40-60 минут и с выходами продуктов **7a-d** до 86%, с саркозином – (описано ранее) 3-4 часа и выходами 55-73% (**4a-e**), а с бензиламином – 4-6 часов и выходами 65-69% (**8a-c**). Наблюдаемая закономерность может служить свидетельством эффективности взаимодействия различных диполей с диполярофилом.

Строение полученных веществ подтверждено различными методами одномерной и двумерной ЯМР-спектроскопии. Вид ключевых кросс-пиков в НМВС спектрах продуктов **7a-d** и **8a-c** (рисунок 1.2.1) совпадает с таковым у соединений **4-6**, полученных в результате циклоприсоединений с участием саркозинового илида, что свидетельствует о сходном расположении заместителей во всех случаях.

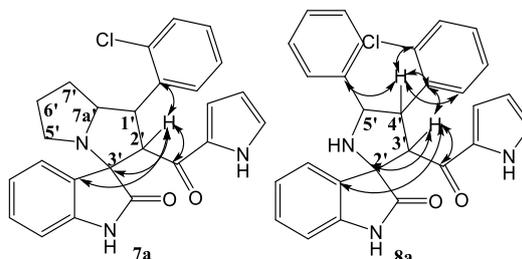


Рисунок 1.2.1 – Основные корреляции в ЯМР ¹H/¹³C НМВС спектрах продуктов **7a** и **8a**

Все продукты имеют также ряд общих стереохимических особенностей, подтверждённых данными NOESY-2D спектроскопии (рисунок 1.2.2): сохранение конфигурации реагирующего диполярофила, трансoidalное положение оксоиндольного

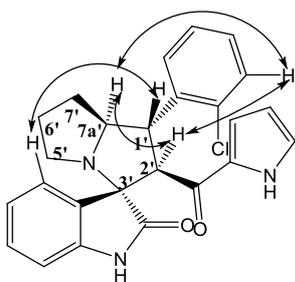


Рисунок 1.2.2 –
Основные
корреляции в
NOESY-2D спектре
продукта **7a**

и фенильного фрагментов. Информативно наличие корреляции между 7'a-CH, 2'-CH и фенильными протонами в продуктах **7a-d**, позволяющих сделать вывод о возможной S-конфигурации исходного пролинового илида.

Механизмы образования диполей представлены на схеме 1.2.1. Важно подчеркнуть, что образование бензиламинового диполя протекает лишь через стадию дегидратации и 1,5-прототропный сдвиг иминиевого основания. При генерации же илидов на основе аминокислоты за стадией дегидратации следует необратимое декарбоксилирование. Разные пути образования диполей приводят к тому, что именно в случае использования бензиламинового илида применение абсолютизированного спирта повышает выходы реакции и сокращает время реакции.

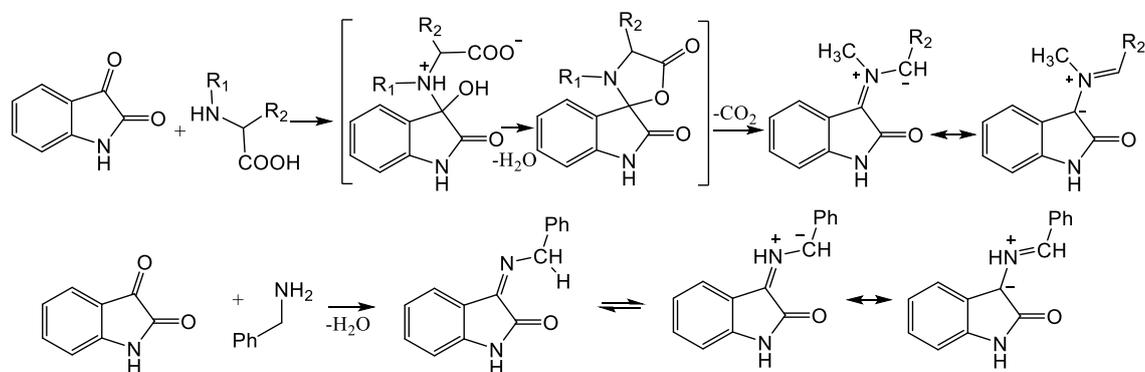
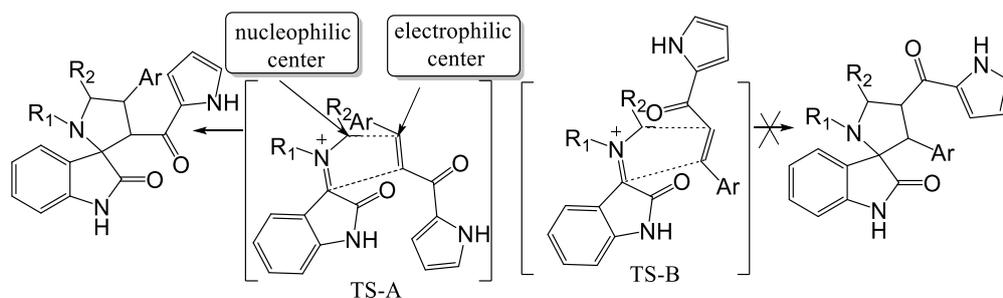


Схема 1.2.1 - Генерация диполей

Известно, что согласованная реакция циклоприсоединения азометин-илидов протекает за счёт взаимодействия ВЗМО_{диполя} и НСМО_{диполярофила}. Уменьшение энергетического разрыва между ВЗМО_{диполя} и НСМО_{диполярофила} увеличивает эффективность взаимодействия, а значит этот процесс предпочтительнее с азометин-илидом, имеющим большее значение энергии ВЗМО за счёт электронодонорных группировок. На основе этого можно объяснить разную реакционную способность изученных диполей. Так, наличие электронодонорных метиленовых звеньев структуры пролинового цикла обеспечивает ему самую высокую реакционную способность, что выражается в сокращении времени реакции и повышении выхода продукта. Саркозиновый илид имеет меньше электронодонорных заместителей, а эффект фенильной группы бензиламинового илида можно отнести к отрицательному мезомерному, поэтому время реакции диполярофила с этим илидом наибольшее.

Теоретически согласованное циклоприсоединение может происходить через переходные состояния TS-A и TS-B, приводящие к получению региоизомеров, различающихся положением заместителей в пирроли(зи)диновом кольце. В нашем случае наблюдается образование исключительно продуктов реализации переходного состояния TS-A, в котором наиболее нуклеофильный центр диполя взаимодействует с наиболее электрофильным β-углеродным атомом еноновой системы.



Ориентация TS_A может по-разному быть реализована в пространстве в зависимости от формы диполя (S и W-формы) и относительного расположения в пространстве диполя и диполярофила (схема 1.2.2). Во всех описанных случаях наблюдается эндо-циклоприсоединения с участием S-илида.

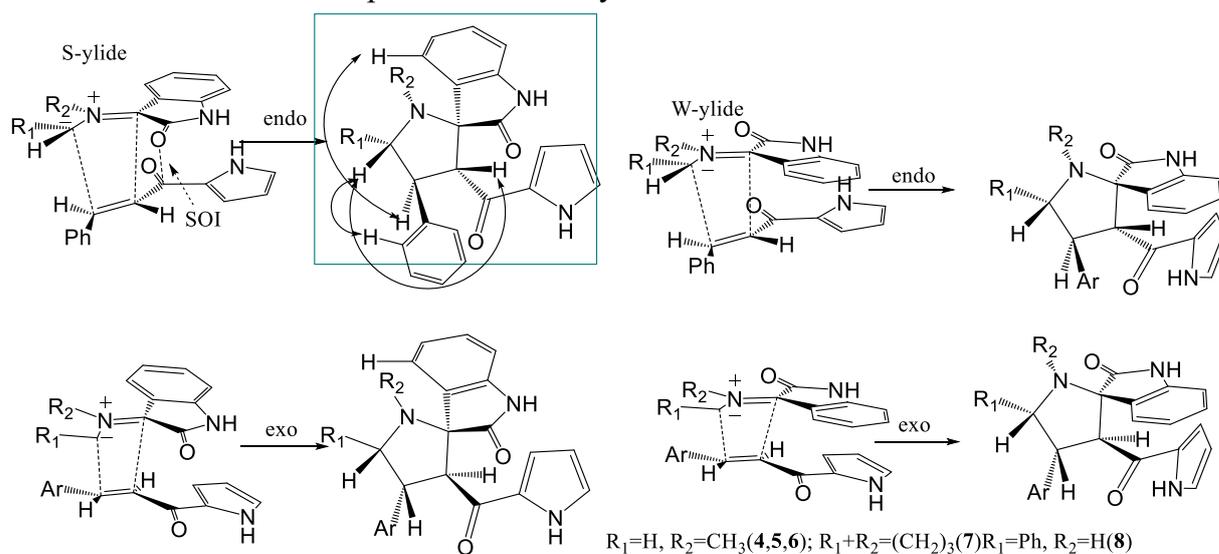


Схема 1.2.2 - Варианты расположения диполя и диполярофила в пространстве (стрелками показаны обнаруженные характеристические корреляции в спектрах NOESY)

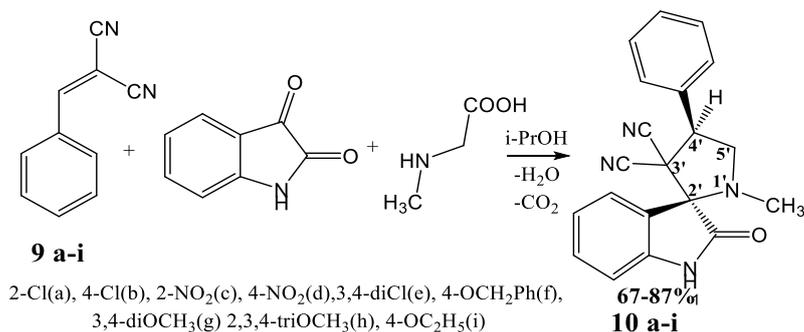
Таким образом, приведенные примеры показывают, что удачный выбор гетероциклического ароматического заместителя приводит к селективному циклоприсоединению. Строение диполя и механизм его генерации влияет только на время реакции, выходы продуктов и требования к подбору методики.

1.3 Реакции бензилиденмалонитрилов с илидами на основе изатина и N-нуклеофилов

Бензилиденмалонитрилы введены в реакцию циклоприсоединения с изатином и саркозином. Взаимодействие эквимольной смеси осуществлено в среде изопропилового спирта при нагревании не выше $70^\circ C$. 1'-Метил-2-оксо-4'-фенилспиро[индолин-3,2'-пирролидин]-3',3'-дикарбонитрилы **10 a-g** получены в течение 5-12 часов с высокими выходами.

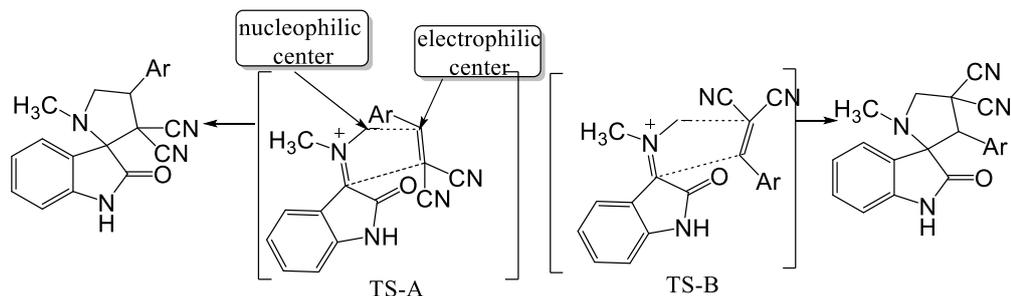
Несмотря на использование илиденмалонитрилов, содержащих заместители в ароматическом фрагменте, различающихся как по электронному эффекту, так и по стерическому объёму, в исследованной реакции получают спиропирролидины одинакового региохимического строения. Природа заместителей влияет лишь на время

реакции. Наиболее быстро проходит циклоприсоединение илиденмалонитрилов, содержащих электроноакцепторные нитрогруппы, наименее – электронодонорные метокси-заместители.



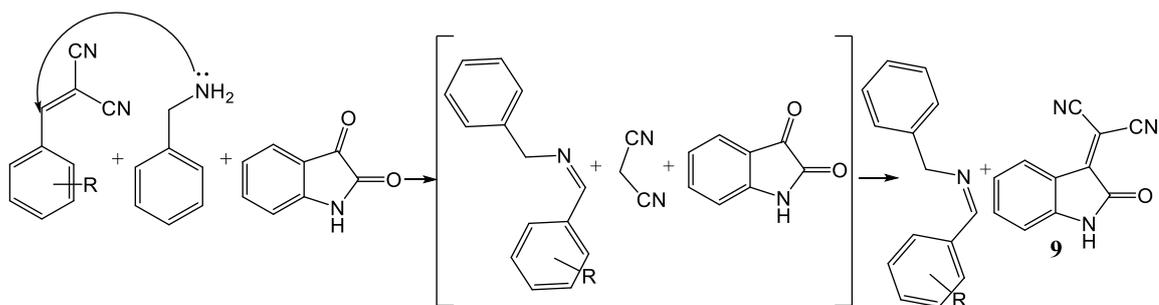
Мультиплетность ключевых сигналов свидетельствует об образовании структурного региоизомера **10**, дополнительным подтверждением являются ключевые кросс-пики в спектрах HSQC и HMBC. Отсутствие корреляции между протоном 4'-CН и протонами индольного фрагмента в спектрах NOESY-2D говорит о цисоидном положении фенильного и индольного фрагментов.

Наиболее электрофильным центром илиденмалонитрилов является атом углерода, находящийся в β-положении относительно двух циано-групп. Региоизомеры, отвечающие ориентации TS-A, являются единственными продуктами реакции саркозинового илида и илиденмалонитрилов **9a-i**.



Попытка проведения циклоприсоединения илиденмалонитрилов и бензиламинового илида не привела к получению желаемых спироциклических продуктов. При перемешивании эквимольных количеств диполярфила, изатина и бензиламина и небольшом нагревании в среде изопропилового спирта независимо от природы заместителя илиденмалонитрила единственным продуктом, который удалось выделить, является изатилиденмалонитрил **9**.

Получение такого продукта можно объяснить нуклеофильной атакой бензиламина на активированную кратную связь илиденмалонитрила, в результате чего образуется основание Шиффа и отщепляется молекула малонитрила, которая впоследствии реагирует с изатином до изатилиденмалонитрила, выпадающего в осадок и смещающего равновесие реакции. В растворе остаётся основание Шиффа, которое может далее распадаться.



Таким образом, илденмалононитрилы могут выступать в качестве диполярофилов, в реакции циклоприсоединения с саркозиновым илидом, однако активность этих соединений в реакции с N-нуклеофилами накладывает некоторые ограничения на выбор иных илидов.

1.4 Специфика взаимодействия бензилиденмалононитрилов и илидов на основе изатина и пролина

В ранее описанных условиях была проведена серия реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения бензилиденмалононитрилов и илида на основе пролина и изатина. Анализ с помощью различных методов ЯМР показал, что в этих условиях образуется изомерная смесь пирролизидинов, в большинстве случаев содержащая продукты **11** и **11'**. Однако циклоприсоединение бензилиденмалононитрилов **9 h,i**, имеющих в составе три метокси-заместителя, приводит к получению в качестве мажорного продукта спиро-пирролизидинов другого региоизомерного состава **12h,i**.

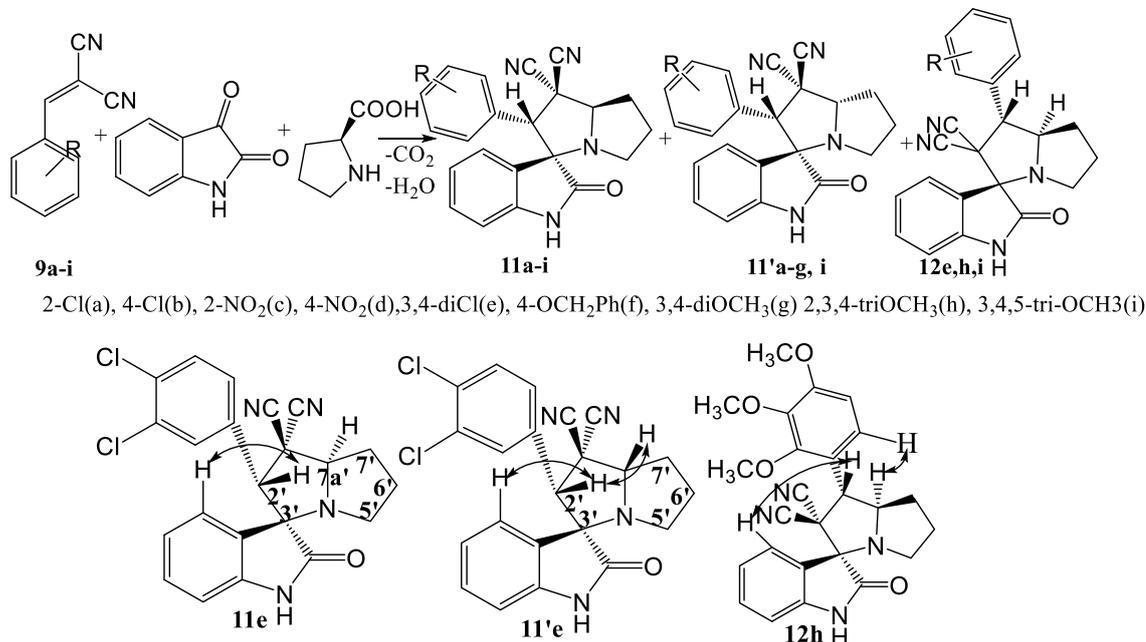


Рисунок 1.4.1 - Основные корреляции в спектре 2D ¹H-¹H NOESY продуктов **11e**, **11e'**, **12h**

Структурное строение спиро-пирролизидинов **11** и **11'** одинаковое. В спектрах 2D ¹H-¹H NOESY (рисунок 1.4.1) минорных продуктов **11'** наряду с характерными для обоих продуктов корреляциями протона 3'-СН и оксоиндольного протона присутствуют корреляции протонов 7a'-СН и 3'-СН, а значит, эти соединения являются

диастереомерами, отличающимися конфигурацией атома углерода 7a'-СН. Соединения **12** относятся к другому типу региоизомера, что подтверждено спектрально.

На основании соотношения интегральной интенсивности был найден изомерный состав полученных продуктов (таблица 1.4.1). Наблюдаемая зависимость этого состава от времени нагревания исходной смеси свидетельствует в пользу обратимости изучаемого циклоприсоединения. Определение особенностей происходящих изменений, необходимых для поиска селективных методик синтеза спиропирролизидинов, осуществлено несколькими способами.

Таблица 1.4.1 - Соотношение изомеров, время реакции и выходы продуктов **11**, **11'**, **12**

№	R	Доля образованного изомера, %			t, мин	Выход, %
		11	11'	12		
a	2-Cl	75	25	0	30	91
b	4-Cl	55	45	0	75	87
c	2-NO ₂	78	22	0	35	79
d	4-NO ₂	86	14	0	55	85
e	3,4-диCl	48	36	16,8	90	88
f	4-OCH ₂ Ph	81	19	0	60	81
g	3,4-диОСН ₃	17	83	0	45	76
h	2,3,4-триОСН ₃	10	0	90	100	75
i	3,4,5-триОСН ₃	25	12,5	62,5	260	68

Прежде всего установлено, что кипячение в этаноле диастереомерной смеси продуктов **11** и **11'** приводит к получению региоизомеров **12** без примесей минорного диастереомера **11'**. Строение спиропирролизидинов **12** подтверждено спектральными данными, доказывающими регио- и диастереохимическое сходство таких продуктов с ранее описанным спиропирролизидином **12h**.

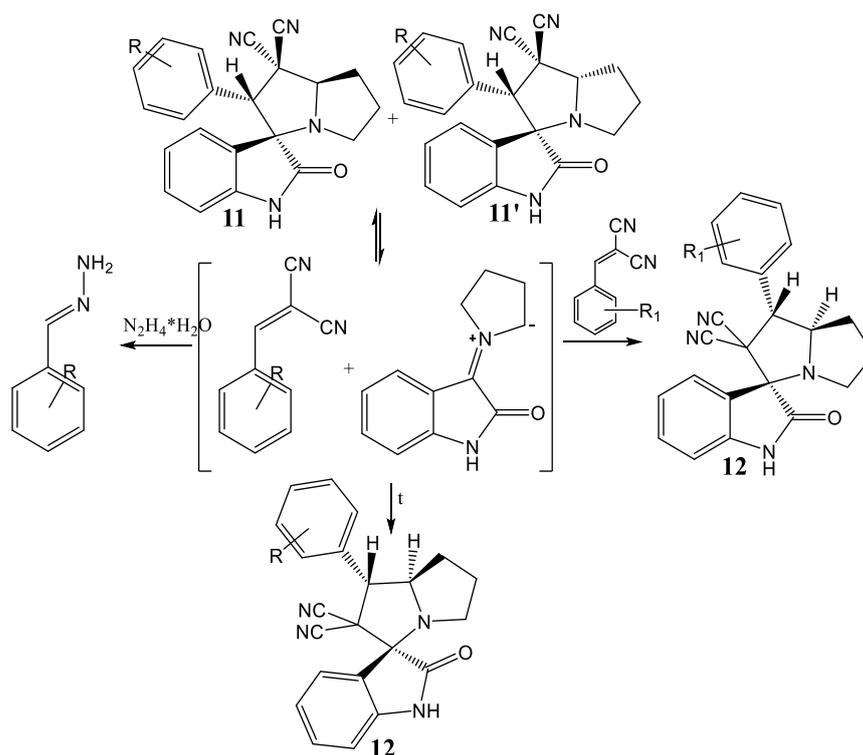
Далее химическими способами получены косвенные доказательства образования пролинового илида и илиденмалонитрила при нагревании диастереомерной смеси продуктов реакции.

Появление исходных илидемалонитрилов подтверждено тем, что при добавлении к нагреваемой смеси диастереомеров **11** и **11'** гидразина гидрата выделен гидразон, который в данных условиях может получаться при участии образованного в результате обратной реакции илиденмалонитрила.

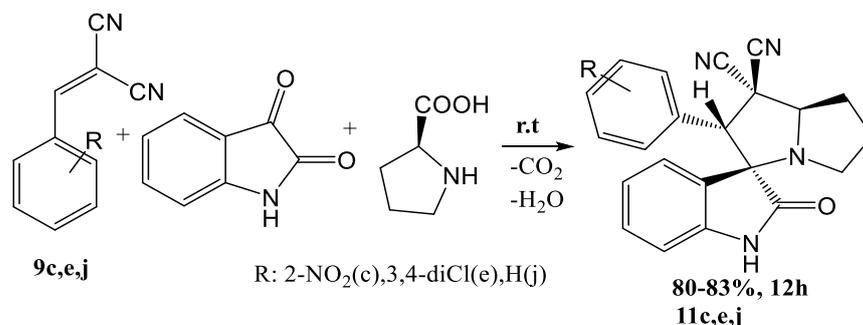
При кипячении в этаноле диастереомеров **11g** и **11g'** (R=3,4-диОСН₃) с избытком 2-(3,4-дихлорбензилиден)малонитрила **9e** зафиксировано образование спиропирролизидина **12e**, подтверждающего появление в реакционной смеси пролинового илида и его взаимодействие с **9e**. Аналогичные результаты по замене арильного заместителя в спиропирролизидине получены между **9g** и смесью диастереомеров **11e** и **11e'**.

Таким образом, вне зависимости от природы ароматического заместителя, при нагревании смеси диастереомеров **11**, **11'** происходит ретро-1,3-диполярное циклоприсоединение с образованием исходного илиденмалонитрила и пролинового

илида, взаимодействие которых при температуре выше 60°C приводит к образованию продуктов **12**.



Для дальнейших исследований выбраны илиденмалонитрилы, содержащие различные по электронному эффекту заместители в ароматическом фрагменте, **9c** ($R=2NO_2$), **9e** ($R=3,4\text{-диCl}$), **9j** ($R=H$). С использованием этих соединений проведены реакции циклоприсоединения без нагревания. В данных условиях содержание минорных продуктов **11'** уменьшается (10-15%).



Растворы продуктов реакции, содержащие избыток изомеров **11** нагревались далее до 50°C в ампуле спектрометра в ДМСО_{д6} в течение 10 минут.

Данные полученных спектров (таблица 1.4.2) свидетельствуют, что во всех проведённых экспериментах происходит уменьшение доли **11** в результате нагревания раствора. Прослеживается зависимость относительной разности между начальной и конечной долями **11** и природой заместителей в илиденмалонитриле: наибольшая разность для **11e** ($R=3,4\text{-диCl}$), наименьшая – для **11c** ($R=NO_2$). Важно заметить, что бóльшие значения падения доли **11** сопровождаются и большим увеличением **12**, как видно на примере спиро-пирролизидинов **11e,11e',12e** ($R=3,4\text{-Cl}$). Такие результаты

могут наблюдаться, если продукты **11'** и **12** получаются в одном связанном процессе, где **11'** также превращается в **12** через определённый промежуток времени.

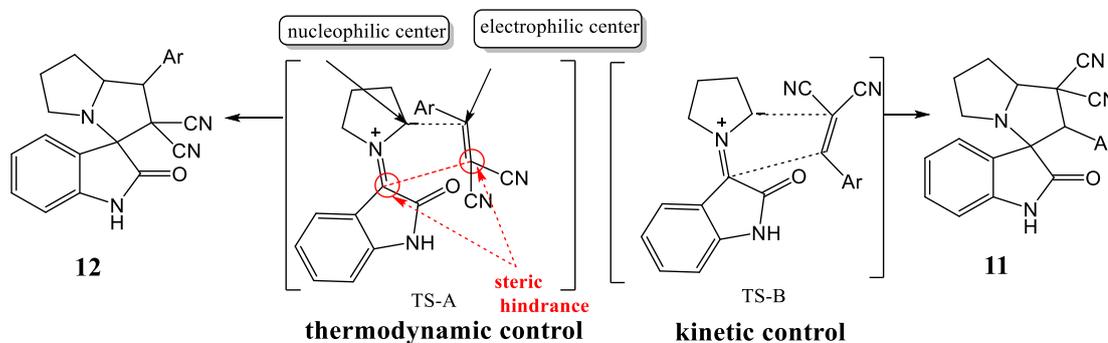
Таблица 1.4.2 - Соотношение изомеров **11**, **11'** и **12**

R \ t(минут)	11		Относительное падение доли 11	11'		12	
	0	10		0	10	0	10
3,4-Cl (e)	0.89	0.23	0.74	0.11	0.08	0	0.69
H (j)	0.90	0.60	0.33	0.10	0.28	0	0.12
2NO ₂ (c)	0.85	0.84	0.01	0.15	0.16	0	0

Вероятная схема исследованных превращений включает в себя образование азометин-илида по цепочке ранее описанных реакций и дальнейшее циклоприсоединение илиденмалонитрила и диполя.

Различная ориентация диполя и диполярофила приводит к двум типам переходных состояний TS-A и TS-B, в результате которых получают структурные региоизомеры, различающиеся положением заместителей при атомах углерода 1'-С и 2'-С пирролизидинового кольца. Применение высокореакционноспособных бензилиденмалонитрилов в качестве диполярофилов и высокореакционноспособного диполя способствует понижению энергии обоих типов переходных состояний.

В кинетически контролируемых условиях основным фактором выгодности переходного состояния является отсутствие стерических препятствий, в результате чего реализуется переходное состояние TS-B, приводящее к продуктам **11**. В TS-A присутствуют пространственные препятствия при образовании связи между β-углеродным атомом диполярофила, содержащим 2 циано-группы в качестве заместителей, и спироциклическим концом диполя. При повышении температуры влияние пространственного фактора уменьшается и на первый план выходит электронный, в результате чего реализуется переходное состояние TS-A, в котором имеется связь между наиболее электрофильным и нуклеофильным центрами диполярофила и диполя соответственно. Таким образом, в термодинамически контролируемых условиях образуется только продукт **12**.



Показательно поведение триметоксизамещенных бензилиденмалонитрилов, взаимодействие с которыми осуществляется значительно дольше (3-4 часа) и приводит к продукту **12**, либо смеси с преобладающим содержанием этого региоизомера. Это может быть вызвано тем, что объёмные заместители в арильном фрагменте затрудняют

взаимодействие β -углеродного атома диполярофила и спироциклического центра диполя и увеличивают энергию переходного состояния TS-B, поэтому реакция происходит только в термодинамических контролируемых условиях через TS-A.

Следует обратить внимание, что взаимодействие того же диполярофила с саркозиновым илидом приводит лишь к одному региоизомеру **10a-i** через переходное состояние типа TS-A (см. ранее). Это может быть вызвано меньшей активностью саркозинового илида по сравнению с пролиновым илидом, из-за чего реакция протекает только при 70°C в термодинамически контролируемых условиях.

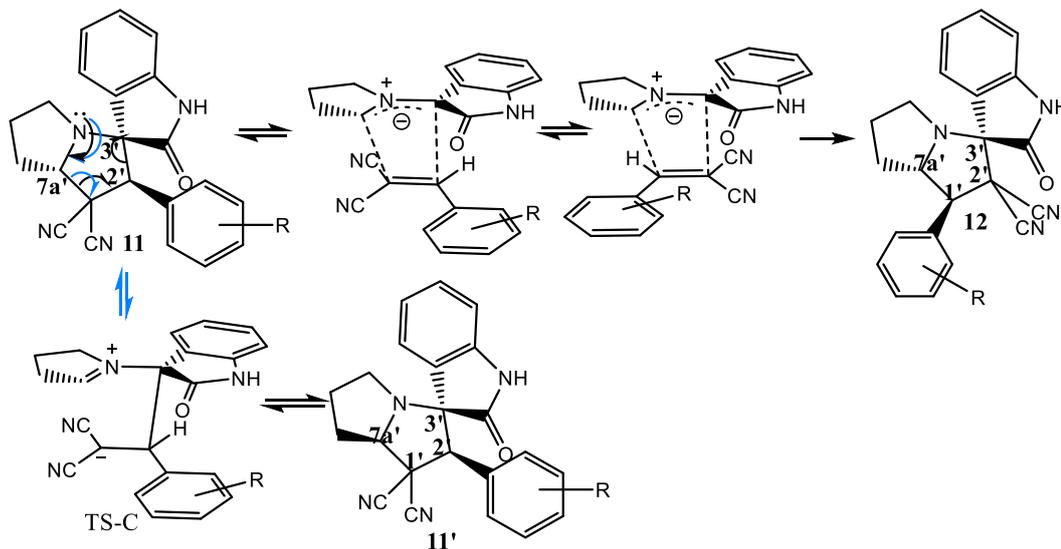
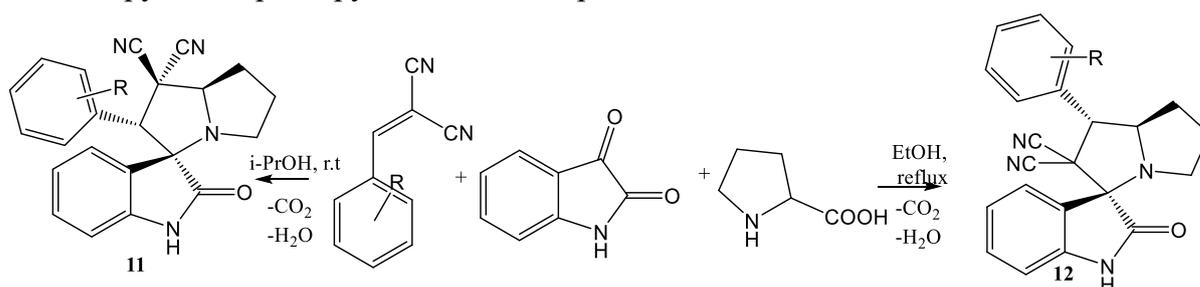


Схема 1.4.1 Возможные изомерные превращения спиропирролизидинов

Образование диастереомера **11'** формально можно представить как результат циклоприсоединения W-формы азометин-илида и бензилиденмалононитрила. В таком случае следовало бы ожидать появление диастереомера **12'**, однако спектры ЯМР, записанные даже в первые минуты после начала нагревания, не содержат сигналов этого соединения, поэтому следует предположить, что **11'** образуется при разрыве только одной связи пирролизидинового кольца. В этом случае протекает реакция ретро-Манниха, в результате которой происходит разрыв связи между атомами углерода 7a'-C и 1'-C с образованием TS-C. Отрицательный заряд локализован на атоме углерода 1'-C, содержащем две электроноакцепторные циано-группы, стабилизирующие его. В дальнейшем возможно замыкание цикла с изменением или сохранением конфигурации 7a'-C, что приводит к **11** и **11'** соответственно. Также возможен разрыв второй связи между 3'-C и 2'-C и образование S-пролинового илида и бензилиденмалононитрила, которые могут взаимодействовать с получением **11** и **12** в зависимости от условий. Наличие электронодонорных заместителей в ароматическом фрагменте дестабилизирует вторую связь C-C, поэтому вместо повторного замыкания цикла вероятнее становится разрыв второй связи, наблюдается увеличение доли продукта **12**, а не **11'**.

Предложенная схема 1.4.1 согласуется с тем фактом, что образование диастереомера мало зависит от типа заместителей в ароматическом фрагменте бензилиденмалононитрила. Электронодонорные свойства заместителя влияют на

смещение равновесия в сторону образования продукта **12**. Диполярофилы с объёмными метокси-группами реагируют только с образованием **12**.



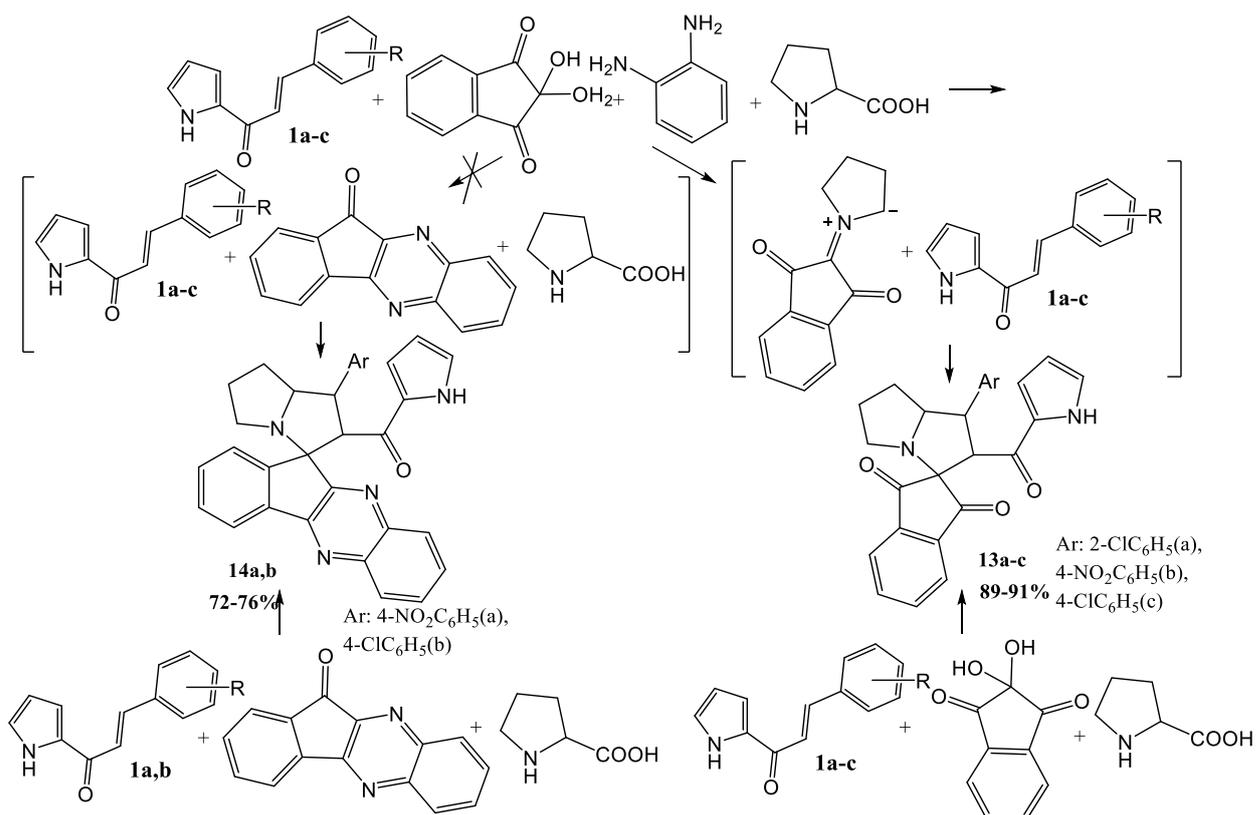
Полученные результаты позволяют предложить селективные методики синтеза пирролизидинов **11** и **12**. Синтез кинетически контролируемого продукта **11** проводится при комнатной температуре при смешивании эквимольных количеств реагентов в среде изопропилового спирта. Термодинамически контролируемый продукт **12** получается при кипячении эквимольной смеси продуктов в этиловом спирте.

1.5 Реакции 1-пиррол-2-ил-3-арилпроп-2-енонов с илидами на основе других карбонильных соединений

1-Пиррол-2-ил-3-арилпроп-2-еноны были введены в реакцию с диполем, полученным конденсацией пролина и новой карбонильной компоненты – 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она. Известно, что 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-он может быть получен *in situ* конденсацией нингидрина и *o*-фенилендиамина, однако в этом случае есть вероятность образования диполя через взаимодействие нингидрина и пролина.

Нами показано, что нагревание смеси, состоящей из эквимольных количеств диполярофила, пролина, нингидрина и *o*-фенилендиамина до 65°C в среде изопропилового спирта приводит к получению не (1'-*R*-фенил-1',2',5',6',7',7*a*'-гексагидроспиро[индено[1,2-*b*]хиноксалин-11,3'-пирролизин]-2'-ил)(1*H*-пиррол-2-ил)метанонов **14a-c**, а 1'-фенил-2'-(1*H*-пирролил)1',2',5',6',7',7*a*'гексагидроспиро[инден2,3'пирролизин]-1,3-дионов **13a-c**, являющихся продуктами циклоприсоединения илида, образованного конденсацией нингидрина и пролина, и диполярофилов. Спиropирролизидины **13a-c** были получены с хорошим выходом (до 95%) встречным синтезом при смешивании эквимольных количеств диполярофила, пролина, нингидрина в среде изопропилового спирта.

Продукты циклоприсоединения **14a,b** удалось получить при введении в реакцию предварительно синтезированного 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она. Наименьшего времени синтеза и высоких выходов удалось добиться при использовании этанола в качестве растворителя и кипячении реакционной смеси.



Общим для спектров НМВС продуктов **13a-c**, **14a,b** является наличие кросс-пиков между протонами 2'-СН, а также карбонильным и спироциклическим атомами углерода, протонами 1'-СН и атомами углерода фенильного фрагмента (рисунок 1.5.1). В предложенной на основании этих данных структуре синтезированных соединений относительное положение гетероильного и фенильного фрагментов совпадает с этим положением в ранее полученных продуктах.

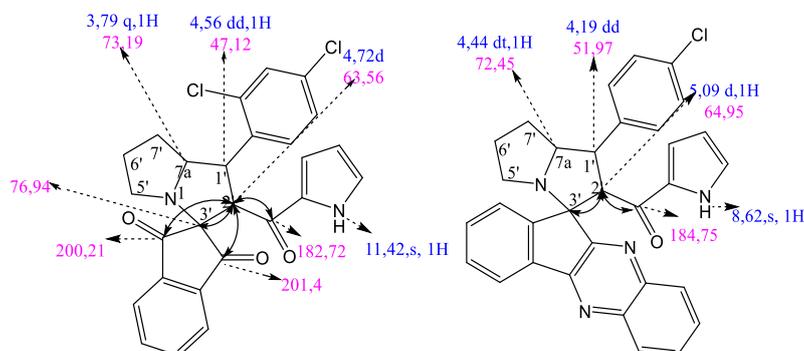
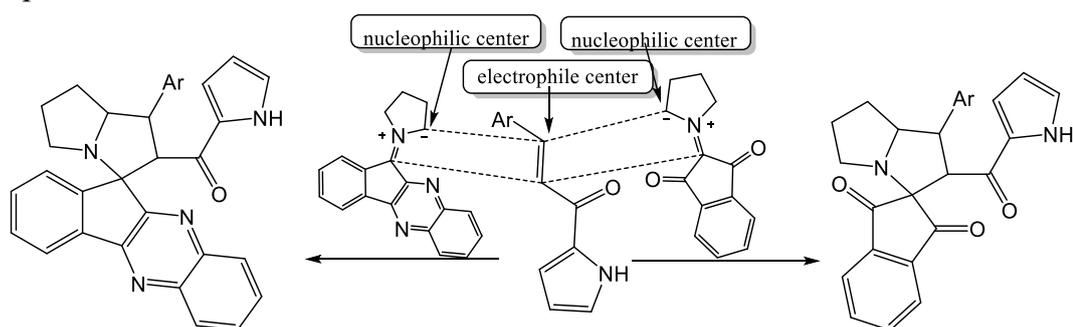


Рисунок 1.5.1 –Характеристические сигналы продукта **13c** и **14b** в спектрах ЯМР ¹H, ¹³C, основные корреляции в ЯМР ¹H/¹³C НМВС спектре

В полученных продуктах сохраняется относительная конфигурация протонов диполярфила, по результатам NOESY спектроскопии отмечается наличие кросс-пиков между 7'-а-СН, 2'-СН и фенильными протонами, для соединений **14a,b** кросс-пик протонов 1'-СН и инденового фрагмента свидетельствует о трансoidalном положении инденового и фенильного фрагментов.

Участие новых карбонильных соединений не должно влиять на механизм образования диполей, описанный ранее для изатина и α-аминокислот. Структура

полученных продуктов также свидетельствует о согласованном характере циклоприсоединения.



Ориентация диполя и диполярфила в переходном состоянии, несмотря на использование различных азометин-илидов, приводит к получению во всех случаях структурных региоизомеров, в которых новая химическая связь образуется между нециклическим концом диполя и электрофильным β -углеродным атомом сопряженной системы (схема 1.5.1).

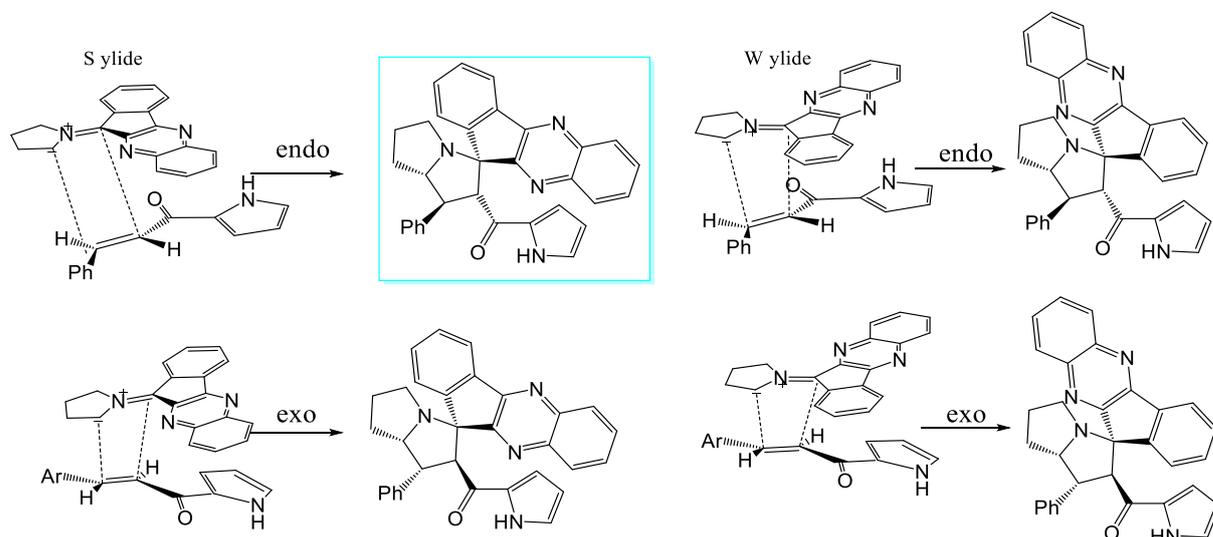


Схема 1.5.1 - Варианты расположения диполя и диполярфила в пространстве

Ориентация в пространстве реагирующих соединений зависит от строения илида и относительного положения диполя и диполярфила. При использовании в качестве карбонильной компоненты 11*H*-индено[1,2-*b*]хиноксалин-11-она наблюдается эндо-циклоприсоединение с участием *S*-илида.

1.6 Прогноз противоопухолевой активности с помощью молекулярного докинга

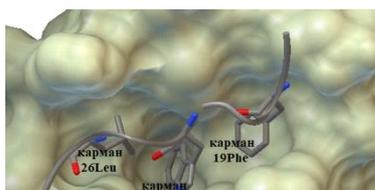


Рисунок 1.6.1 –
Комплекс белков p53-
MDM2

Молекулярный докинг синтезированных соединений проведен с использованием AutoDock Tools (ADT) версии 1.5.6 и AutoDock версии 4.2.5.1. В качестве мишени выбран фермент убиквитинлигаза E3 MDM2, так как гиперэкспрессия этого фермента приводит к дезактивации белка-онкосупрессора p53 вследствие образования белок-белкового комплекса между ними. Как видно из представленного комплекса между белками

p53 и MDM2 (рисунок 1.6.1), одна из полостей активного центра MDM2 взаимодействует с аминокислотным остатком 23Trp белка p53, что объясняет поиск низкомолекулярных агентов, предотвращающих взаимодействие белков, именно среди синтезированных соединений, так как они содержат индольный фрагмент.

На рисунке 1.6.2 приведены примеры наиболее выгодных комплексов для продуктов различных видов. В комплексах продуктов **4-8** циклоприсоединения енонов и илидов, полученных с использованием изатина, отдельные фрагменты молекулы продукта находятся в одинаковых карманах макромолекулы фермента. Заместители при атоме углерода 5'-C(7'a-C) пирроли(зи)динового кольца соединений **7** и **8** находятся в кармане «26Leu», что увеличивает количество гидрофобных взаимодействий с аминокислотными остатками не только в этом кармане, но и в других полостях молекулы по сравнению с продуктами **4-6**, не имеющих заместителей. Отмечено также влияние заместителя арильного фрагмента на эффективность образования комплекса: наилучшие результаты получены при наличии заместителя в 3 и 4 положении. Среди особенностей комплекса, присущих синтезированным структурам, стоит отметить образование водородной связи между NH-фрагментом и аминокислотным остатком 58Glu, а также π -стекинговые взаимодействия пиррольного фрагмента и 67Tyr.

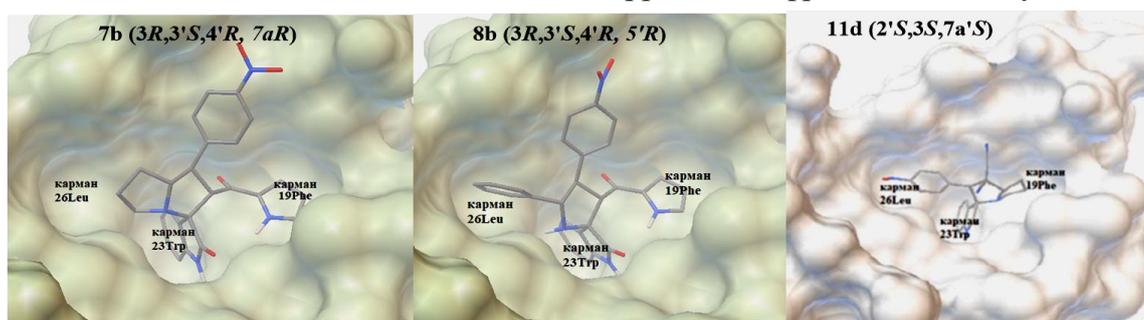


Рисунок 1.6.2 – Комплекс MDM2 и **7b**, **8b**, **11d**

Фрагменты молекул соединений **11** также находятся в комплексе в трёх карманах фермента, однако это взаимодействие не настолько эффективно, что выражается в меньшем количестве гидрофобных взаимодействий с аминокислотными остатками этих карманов, хорошие показатели имеет лишь комплекс с продуктом **11d**.

Таблица 1.6.1 - Характеристики рассчитанных комплексов

Соединение	R	$E_{св}$, ккал/моль	K_i , nM
SAR405838		-12.79	0.42
7c	4-Cl	-13.48	0.13
7d	3-NO ₂	-13.24	0.2
8b	4-NO ₂	-13.12	0.24
7b	4-NO ₂	-12.86	0.38
8c	4-Cl	-12.69	0.5
11d	4-NO ₂	-12.68	0.51

Комплексы продуктов **10** и **12** не содержат фрагментов молекулы в некоторых карманах ферментов, и энергетические показатели таких комплексов уступают остальным.

Для сравнения результатов произведен докинг спирооксиндола SAR405838 (MI-77301), обладающего клинически доказанной противораковой активностью. Результаты приведены в таблице 1.6.1. Соизмеримыми с SAR405838 характеристиками обладают продукты **7b-d**, **8b**, **c**, **11d**.

Таким образом, среди синтезированных соединений наиболее перспективными кандидатами на роль противораковых агентов являются 1'-арил-2'-(1Н-пиррол-2-ил)-1',2',5',6',7',7a'-гексагидроспиро[индолин-3,3'-пирролизин]-2-оны **7b-d** и 4'-арил-5'-фенил-3'-(1Н-пиррол-2-ил)спиро[индолин-3,2'-пирролидин]-2-оны **8b,c**, содержащие заместители в 3 и 4 положении арильного фрагмента.

ВЫВОДЫ

1. Разработаны эффективные подходы к регио- и стереонаправленному синтезу спиросочленённых пирролидинов и пирролизидинов, содержащих индольный, инденовый, хиноксалиновый фрагменты, а также гетероароильные, арильные и нитрильные заместители. Гетероциклический и гетероароильный фрагменты находятся при соседних атомах углерода пирроли(зи)динового цикла. Получены эндо-продукты относительно арильного заместителя, ароильный и арильный фрагменты находятся в транс-конфигурации относительно пирроли(зи)динового кольца, что соответствует сохранению транс-конфигурации исходных енонов.

2. Показано, что 1-гетероарил-3-арилпроп-2-еноны могут выступать в качестве активных диполярфилов в реакциях с диполями, полученными конденсацией различных карбонильных компонент (изатина, нингидрина, инденохинаксолина) и N-нуклеофилов. Высокая регио- и диастереоселективность изученных процессов свидетельствует о согласованном циклоприсоединении. Вне зависимости от диполя и гетероциклического заместителя происходит образование продукта через переходное состояние, приводящее к связи между β -электрофильным атомом углерода енона и неспироциклическим концом диполя.

3. Выявлены особенности поведения бензилиденмалононитрилов в качестве диполярфилов. Наличие двух электроноакцепторных групп при атоме углерода двойной связи бензилиденмалононитрилов приводит, с одной стороны, к высокой активности этих соединений в качестве диполярфилов, а с другой стороны, к меньшей селективности, что накладывает ограничения на выбор N-нуклеофила, использующегося для генерации азометин-илида.

4. Разработаны селективные способы получения региоизомеров циклоприсоединения бензилиденмалононитрилов и пролинового илида. Найдены основные закономерности влияния условий реакции на региохимический и диастереохимический состав продуктов. Предложены вероятные схемы взаимных изомерных превращений продуктов через реакции ретро-1,3-диполярного циклоприсоединения. Описаны условия образования диастереомера через реакцию ретро-Манниха.

5. Показано, что четырёхкомпонентный синтез спиросочленённых пирролизидинов с инденохиноксалиновым фрагментом на основе реакции диполярофила, пролина, нингидрина и 1,2-фенилендиамин не возможен, так как реакция протекает как трёхкомпонентная через нингидриновый диполь с образованием спиросочленённых пирролизидинов с индендионовым фрагментом. Продукты с инденохиноксалиновым фрагментом можно получить лишь постадийно через инденохиноксалинон.

6. Предложены вероятные схемы изученных превращений на основе анализа тонкой структуры продуктов и выявленных закономерностей.

7. С помощью проведения молекулярного докинга выявлены синтезированные соединения, образующие наиболее прочные комплексы с ферментом убиквентилигазой MDM2.

Основное содержание диссертации изложено в следующих работах:

Статьи в рецензируемых журналах

1. Борисова С. В., Сорокин В. В., Клочкова И.Н. Синтез спиро-пирролизидинов, содержащих хиноксалиновый и пиррольный фрагменты // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология, 2023, Т.23, № .2. С.175-184.
2. Борисова С.В., Сорокин В.В. Синтез новых спироиндолинопирролизидинов//Журнал общей химии, 2022, Т. 92. № 1. С. 22-30.
3. Борисова С. В., Сорокин В. В. Синтез полизамещенных спиро-пирролизидинов с использованием 2-ацетилфурана, 2-ацетилтиофена и 2-ацетилпиррола // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология, 2021, Т. 21. №3. С. 254-259.
4. Рогачева С.М., Жутов А.С., Шилова Н.А., Клочкова И.Н., Борисова С.В. Оценка рострегулирующей активности и экотоксичности диарилидензамещенных циклогексанонов // Известия Саратовского университета. Новая серия. Серия: Химия. Биология. Экология 2020. Т. 20, №2. С. 137-145.

Статьи в сборниках и тезисы докладов

1. Мещерякова А. А., Борисова С. В., Абдуллаева С. Ч., Кочуков А. С., Неумоина К. С., Ивонин М. А., Сорокин В. В. Синтез конденсированных соединений ряда хроменопиразола, хроменопиридопиримидина, пиридопиримидина// Сборник трудов 8-й Международной научно-методической конференции «Пути и формы совершенствования фармацевтического образования. Актуальные вопросы разработки и исследования новых лекарственных средств» Воронеж, 2022, С. 353-356.
2. Борисова С. В., Кочуков А. С., Сорокин В. В. Особенности синтеза новых спироциклических структур с использованием 11Н-индено[1,2-в]хиноксалин-11-онов// Сборник тезисов VI Всероссийской молодежной конференции «Проблемы и достижения химии кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений» Уфа, 2022. С 13.

3. Борисова С. В., Абдуллаева С. Ч., Сорокин В. В. Применение двумерной спектроскопии ЯМР с анализе продуктов реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения некоторых азометин-илидов и бензилиденмалонитрилов// Материалы 9-го Международного симпозиума по оптике и биофотонике и 25-й Международной молодежной научной школы по оптике, лазерной физике и биофотонике «Проблемы оптической физики и биофотоники SFM-2021» Саратов, 2021. С 56-59.
4. Борисова С. В., Абдуллаева С. Ч., Кочуков А. С., Сорокин В. В. Илиденмалонитрилы в трёхкомпонентном синтезе новых гетероциклических систем// Межвузовский сборник научных трудов «Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии» Саратов, 2021. С 57-58.
5. Борисова С. В., Абдуллаева С. Ч., Кочуков А. С., Сорокин В. В. Илиденмалонитрилы в трёхкомпонентном синтезе новых гетероциклических систем// Сборник тезисов VI Всероссийской молодежной конференции «Проблемы и достижения химии кислород- и азотсодержащих биологически активных соединений» Уфа, 2021. С 13.
6. Борисова С. В., Мещерякова А.А., Сорокин В. В. 1,3-Бинуклеофилы и 1,3-Диполи в синтезе новых полигетероциклических систем // Межвузовский сборник научных трудов «Современные проблемы теоретической и экспериментальной химии» Саратов, 2020. С 34-35.
7. Борисова С.В., Устинова Е.Н., Киселева Э.И. Многокомпонентный синтез спироиндолпирролидинов и спироиндолпирролизидинов на основе 3-фенил-1-(пирролил-2)-пропен-2-онов//Материалы XXVII Международной научной конференции студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов – 2020», 2020. С. 714
8. Борисова С.В., Киселева Э.И., Сорокин В.В., Клочкова И.Н. Применение двумерной спектроскопии ЯМР с анализе продуктов реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения некоторых азометин-илидов и 3-фенил-1-(пиррол-2-ил)пропен-2-онов// Материалы 8-го Международного симпозиума по оптике и биофотонике и 24-й Международной молодежной научной школы по оптике, лазерной физике и биофотонике «Проблемы оптической физики и биофотоники SFM-2020» Саратов, 2020. С 24-28.
9. Тумский Р.С., Борисова С.В., Бирюкова Е.А., Голованова А.В., Устинова Е.Н., Клочкова И.Н Реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения в синтезе полядерных гетероциклических // Сборник научных трудов по материалам II Всероссийской конференции «Химия биологически активных веществ» с международным участием, Саратов, 2019. С 222.
10. Клочкова И.Н., Тумский Р.С., Устинова Е.Н., Борисова С.В. Регио- и стереонаправленный синтез биологически активных гидроазолов и гидроазинов // Тезисы докладов XXI Менделеевского съезда по общей и прикладной химии., Санкт-Петербург, 2019. Т. 5. С. 312.