

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ
имени М.В.ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Шибанов Дмитрий Евгеньевич

**[4+2]-Циклоприсоединение к 5-метиленимидазолу в
синтезе спироциклических производных**

1.4.3 – Органическая химия

АВТОРЕФЕРАТ

диссертации на соискание ученой степени
кандидата химических наук

Москва – 2023

Диссертация подготовлена на кафедре органической химии Химического факультета
МГУ имени М.В. Ломоносова

Научный руководитель

Белоглазкина Елена Кимовна

доктор химических наук, доцент

Официальные оппоненты

Щекотихин Андрей Егорович

доктор химических наук, профессор; ФГБНУ
«Научно-исследовательский институт по
изысканию новых антибиотиков имени
Г.Ф. Гаузе», директор

Верещагин Анатолий Николаевич

доктор химических наук, ФГБУН «Институт
органической химии имени Н.Д. Зелинского
Российской Академии Наук», заместитель
директора по научной работе

Подругина Татьяна Александровна

кандидат химических наук, доцент; ФГБОУ ВО
МГУ имени М.В. Ломоносова, кафедра
медицинской химии и тонкого органического
синтеза, доцент

Защита состоится «14» июня 2023 г. в 12.30 часов на заседании диссертационного совета
МГУ.014.1 Московского государственного университета имени М.В. Ломоносова по
адресу: 119991, Москва, ГПС-1, Ленинские горы, д. 1, стр. 3, Химический факультет МГУ,
аудитория 446.

E-mail: maloshitskaya@org.chem.msu.ru

С диссертацией можно ознакомиться в отделе диссертаций научной библиотеки МГУ
имени М.В. Ломоносова по адресу: г. Москва, Ломоносовский проспект, д. 27 и на сайте
ИАС «ИСТИНА» <https://istina.msu.ru/dissertations/552032128/> и на портале:
<https://dissovet.msu.ru/dissertation/014.1/2541>.

Автореферат разослан «__» мая 2023 г.

Ученый секретарь
диссертационного совета,
кандидат химических наук

О.А. Малошицкая

ОБЩАЯ ХАРАКТЕРИСТИКА РАБОТЫ

Актуальность темы. Создание методов синтеза низкомолекулярных органических соединений с потенциальной биологической активностью является важной задачей современной органической химии. Малые молекулы в значительно меньшей мере подвергаются деградации и метаболизму в условиях организма по сравнению с их высокомолекулярными аналогами, а варьирование исходных реагентов даёт возможность конструировать молекулы с широким кругом заместителей и функциональных групп.

Одним из эффективных и атом-экономичных методов синтеза низкомолекулярных соединений, проявляющих различные типы биологической активности, является реакция Дильса-Альдера с диенофилами, содержащими экзоциклическую двойную связь. Получаемые таким путём спироаддукты обладают ограниченной конформационной подвижностью, что позволяет зафиксировать функциональные группы спироцикла в положениях, необходимых для взаимодействия с целевыми субстратами. Кроме того, аддукты реакции [4+2]-циклоприсоединения могут быть легко подвергнуты дальнейшим модификациям по образующейся кратной C=C связи, что расширяет круг получаемых спиросочленённых продуктов. Полученные в результате такого взаимодействия спироциклические соединения содержат несколько карбо- и гетероциклических фармакофорных фрагментов и имеют жёсткую структуру, что важно для прочного связывания с биологическим мишенями.

Степень разработанности темы. В настоящее время производные гидантоина и тиогидантоина, содержащие в своей структуре два спиросочленённых пятичленных гетероцикла, известны как соединения с высокой цитотоксичностью, предположительным механизмом которой является ингибирование белок-белкового взаимодействия p53-MDM2. Однако общие методы синтеза имидазолонов, спиросочленённых с 6-членными циклами, на момент начала данной диссертационной работы в литературе описаны не были, и биологическая активность данных соединений ранее не изучалась.

Целью работы является разработка синтетических подходов к новым классам спироциклических производных гидантоина и тиогидантоина с использованием реакции Дильса-Альдера и последующих модификаций синтезируемых молекул, а также исследование цитотоксичности полученных соединений.

Задачами исследования были: 1) разработка и оптимизация подходов к получению новых структурных классов спиропроизводных имидазолонов посредством реакций [4+2]-циклоприсоединения 5-метиленимидазолонов с циклическими диенами, а также производными 1,3-бутадиена; 2) исследование реакций

[3+2]-циклоприсоединения нитрилоксидов, нитрилиминов, азидов, азометилиминов, азометилилидов и нитрилилидов к спиропроизводным гидантоина и тиогидантоина, полученными в результате [4+2]-циклоприсоединения; 3) изучение возможности синтеза спиропроизводных имидазолонов с оксирановым или азиридиновым фрагментом из соответствующих неопределённых спиропроизводных; 4) изучение возможности введения функциональных групп в структуру неопределённых спироимидазолонов реакциями с электрофильными агентами; 5) исследование цитотоксичности полученных спироциклических гидантоинов и тиогидантоинов *in vitro* на различных клеточных культурах.

Предметом исследования являлись методы синтеза спироимидазолонов реакциями [4+2]-циклоприсоединения, исследование *эндо-/экзо*-селективности реакции Дильса-Альдера, а также изучение направления дальнейших модификаций полученных спиропроизводных реакциями 1,3-диполярного циклоприсоединения, эпоксидирования и электрофильного присоединения.

Научная новизна работы: 1) впервые был разработан общий подход к синтезу 2-халькоген-имидазолонов, содержащих в своей структуре спиросочленённые с имидазолоновым фрагментом 6-членные алициклы; 2) разработан синтетический подход к получению конформационно жестких тетрациклических производных гидантоинов и тиогидантоинов, содержащих изоксазолиновые, пиразолиновые, триазолиновые, оксирановые и азиридиновые фрагменты; 3) впервые предложен удобный, простой в воспроизведении метод генерации 1,3-диполей путём диффузионного смешивания хлороксимов и хлоргидразонов с парами триэтиламина, позволяющий добиться высокого выхода продуктов 1,3-диполярного циклоприсоединения за счёт подавления димеризации диполей; 4) разработан двухстадийный подход к получению полициклических гидантоинов последовательными реакциями Дильса-Альдера и электрофильного присоединения; 5) изучена цитотоксичность полученных спироциклических производных.

Теоретическая и практическая значимость работы: 1) разработаны препаративные методики реакции Дильса-Альдера метилиден- и галогенметилиденимидазолонов с простыми диенами (циклопентадиен, 1,3-циклогексадиен, 2,3-диметилбутадиен, изопрен); 2) показана возможность модификации структур получаемых в результате [4+2]-циклоприсоединения спиросочленённых гидантоинов и тиогидантоинов реакциями с нитрилоксидами, нитрилиминами, азидами и пероксокислотами; 3) разработан новый метод проведения реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения в условиях диффузионного смешивания реагентов, который позволяет подавить нежелательные процессы димеризации

высокореакционных 1,3-диполей; 4) разработаны новые подходы десульфуривания производных тиогидантоинов; 5) предложен метод синтеза полициклических гидантоинов реакциями конформационно ограниченных N(1)-замещённых имидазолонов с электрофильными агентами (Br₂, I₂, PhSCl, PhSeBr).

Методология диссертационного исследования. Целевые соединения были получены с использованием реакций аза-Виттига, Дильса-Альдера, 1,3-диполярного циклоприсоединения, конденсации, алкилирования, ацилирования, эпоксидирования и электрофильного присоединения. Очистка полученных соединений проводилась методами колоночной хроматографии, перегонки, перекристаллизации, экстракции. Структура, состав и чистота полученных соединений определялась методами ЯМР, в том числе с использованием двумерных корреляционных методик, масс-спектрометрии высокого разрешения, тонкослойной хроматографии (ТСХ), жидкостной хроматографии/масс-спектрометрии (ЖХМС), рентгеноструктурного анализа (РСА).

Положения, выносимые на защиту:

1) Реакция Дильса-Альдера может быть использована для стереоселективного синтеза спиропроизводных имидазолонов из 5-метилен-замещённых 2-халькогенимидазолонов.

2) Новые классы каркасных спиропроизводных гидантоинов, содержащих четыре карбо- и гетероциклических фрагмента, можно синтезировать взаимодействием продуктов [4+2]-циклоприсоединения 5-метиленимидазолонов с нитрилоксидами, нитрилиминами, азидами и пероксокислотами.

3) Полициклические спиросоединения, содержащие комбинацию гидантоинового и оксазинанового фрагмента, получают при взаимодействии продуктов реакции Дильса-Альдера 5-метиленимидазолонов с электрофильными агентами.

4) Метод диффузионного смешивания хлороксимов и хлоргидразонов с парами триэтиламина является эффективным способом проведения реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения с нитрилоксидами и нитрилиминами, позволяющим добиться высокого выхода продуктов за счёт подавления димеризации диполей.

5) Наиболее активные из полученных полициклических спирогидантоинов и спиротиогидантоинов демонстрируют цитотоксичность в диапазоне 4-15 мкМ в исследованиях *in vitro*.

Личный вклад автора состоял в сборе и анализе литературных данных по тематике исследования. Автор принимал участие в составлении плана исследований. Автором осуществлён синтез целевых соединений, анализ и интерпретация полученных результатов, подготовка материалов исследования к публикации в научных изданиях.

Подготовка к публикации полученных результатов проводилась совместно с соавторами, причём вклад соискателя был основополагающим.

Публикации. По материалам диссертационного исследования опубликовано 8 печатных работ: 4 статьи в рецензируемых научных журналах, индексируемых международными базами данных (Web of Science, Scopus) и рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.4.3 - органическая химия, 4 тезиса докладов на международных и российских конференциях.

Апробация результатов. Основные результаты диссертационной работы были представлены на международных и российских конференциях: международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020», Всероссийский конгресс по химии гетероциклических соединений «KOST-2021», «VI Северо-Кавказская конференция по органической химии» (2022 г.), «Марковниковские чтения. Органическая химия: от Марковникова до наших дней» (WSOC-2022).

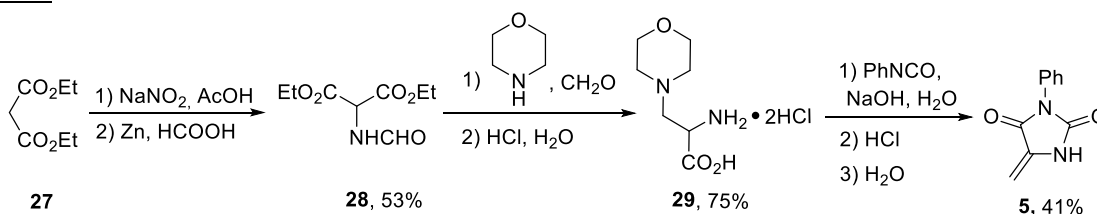
Структура и объем работы. Работа состоит из шести разделов: введения, обзора литературы на тему «Циклические метилиденовые соединения в реакциях Дильса-Альдера», обсуждения результатов, экспериментальной части, выводов и списка цитируемой литературы. Работа изложена на 193 листах машинописного текста, содержит 118 схем, 17 рисунков, 39 таблиц. Список цитируемой литературы включает 201 наименований.

ОСНОВНОЕ СОДЕРЖАНИЕ РАБОТЫ

1. Синтез исходных диенофилов

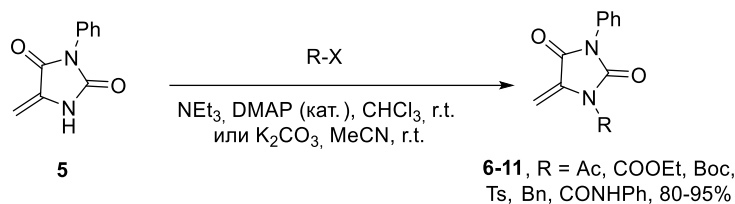
На первом этапе работы нами были разработаны подходы к синтезу имидазолонов **6-26**, содержащих экзоциклическую двойную связь в положении C(5), поскольку наличие заместителей с различными электронными и стерическими эффектами при двойной связи имидазольона и в непосредственной близости от неё может влиять на реакционную способность диенофила, что позволяет управлять скоростью и селективностью реакции Дильса-Альдера. Необходимые для синтеза соединений **6-24** исходные субстраты **5** и **29** были получены по описанной в литературе методике (Схема 1).

Схема 1.



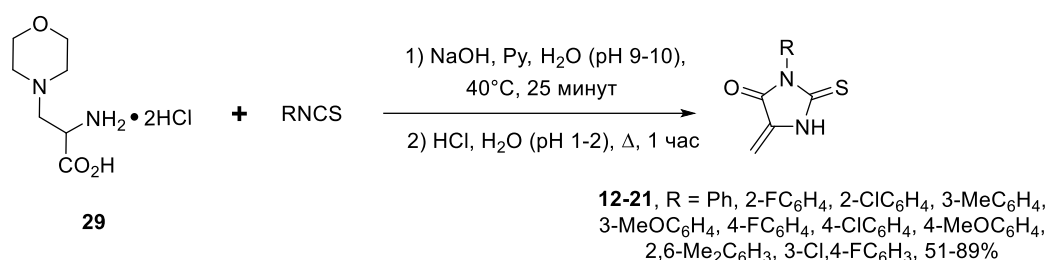
N(1)-замещённые гидантоины **6-11** были синтезированы при взаимодействии метилиденгидантоина **5** с ацилирующими агентами, этилхлорформиатом, тозилхлоридом, бензилхлоридом и фенилизоцианатом (Схема 2).

Схема 2.



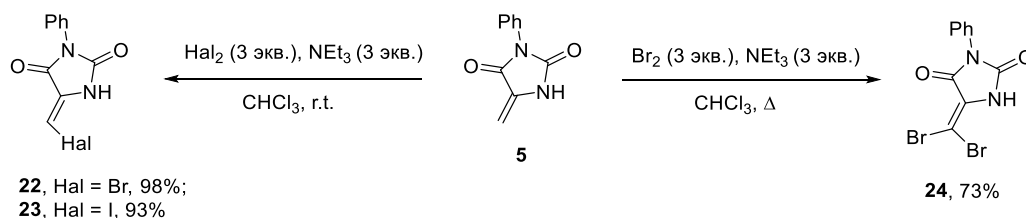
В оптимизированных условиях из аминокислоты **29** и PhNCS были получены 3-арил-5-метилендентиогидантоины **12-21** (Схема 3).

Схема 3.



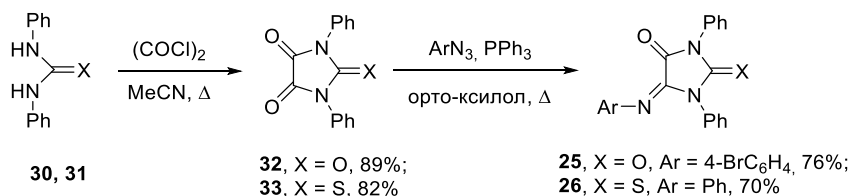
Метилиденгидантоин **5** также был использован для синтеза моно- и дигалогенметиленовых производных **22-24** (Схема 4).

Схема 4.



Имидазолы, содержащие экзоциклическую C=N связь в положении C(5) гетероцикла, были получены по реакциям, показанными на Схеме 5.

Схема 5.



2. Взаимодействие метилиденимидазолонов с диенами

2.1. Реакции с циклопентадиеном

Условия реакции Дильса-Альдера (соотношение реагентов, растворитель, температура) метилиден-имидазолоновых производных с циклопентадиеном были

оптимизированы на примере гидантоина **5**. Оптимальным оказалось использование 8-кратного избытка диена при кипячении в хлороформе, бензоле, метаноле или этаноле.

При кипячении в хлороформе в реакцию были введены метилиденимидазолонны **6-16** и **19**. Результаты представлены в Таблице 1 и на Схеме 6. Во всех случаях реакция циклоприсоединения протекала с преимущественным образованием продукта с *экзо*-конфигурацией. Было установлено, что диастереоселективность процесса чувствительна к природе заместителя в положении N(1) имидазолонового фрагмента, но практически не зависит от природы экзоциклического атома халькогена в положении C(2) (O или S) и заместителей в положении N(3).

Схема 6.

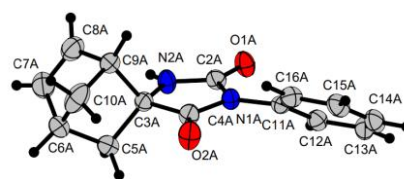
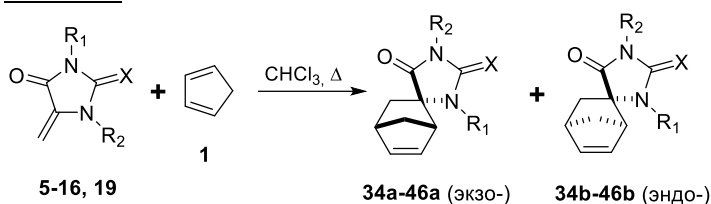


Рис. 1. Молекулярная структура соединения **34a**.

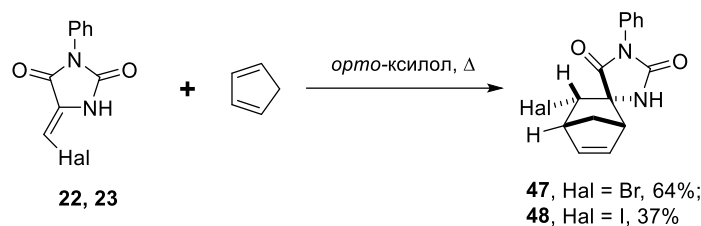
Таблица 1. Продукты реакции Дильса-Альдера имидазолонов **5-16** и **19** с циклопентадиеном

продукт	X	R ₁	R ₂	<i>экзо:эндо</i> ^a	выход, %
34a + 34b	O	Ph	H	91 : 9	81 + 9 ^b
35a + 35b	O	Ph	Ac	77 : 23	73 (78 : 22) ^c
36a + 36b	O	Ph	COOEt	79 : 21	83 (83 : 17) ^c
37a + 37b	O	Ph	Ts	87 : 13	91 (89 : 11) ^c
38a + 38b	O	Ph	Boc	85 : 15	73 (85 : 15) ^c
39a + 39b	O	Ph	CH ₂ Ph	100 : 0	10 ^d
40a + 40b	O	Ph	CONHPh	80 : 20	85 (80 : 20) ^c
41a + 41b	S	Ph	H	91 : 9	79 + 8 ^b
42a + 42b	S	2-FC ₆ H ₄	H	91 : 9	71 + 7 ^b
43a + 43b	S	2-ClC ₆ H ₄	H	91 : 9	68 + 0 ^b
44a + 44b	S	3-MeC ₆ H ₄	H	91 : 9	80 + 8 ^b
45a + 45b	S	3-MeOC ₆ H ₄	H	91 : 9	81 + 9 ^b
46a + 46b	S	4-MeOC ₆ H ₄	H	91 : 9	78 + 8 ^b

^a по данным ¹H ЯМР спектра реакционной смеси. ^b выход выделенных в индивидуальном виде основного и минорного продуктов. ^c выход для выделенной смеси основного и минорного продукта. В скобках указано соотношение изомеров. ^d выход определяли по данным ¹H ЯМР спектра реакционной смеси.

В реакциях тризамещённых соединений **22, 23** с 20-кратным избытком диена при кипячении в *орто*-ксилоле были получены *экзо*-изомеры **47** и **48** с умеренными выходами (Схема 7).

Схема 7.

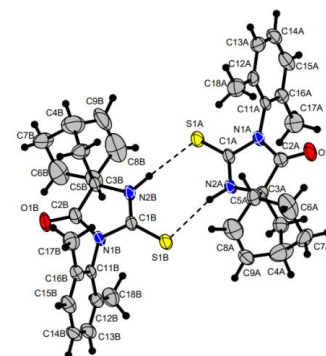
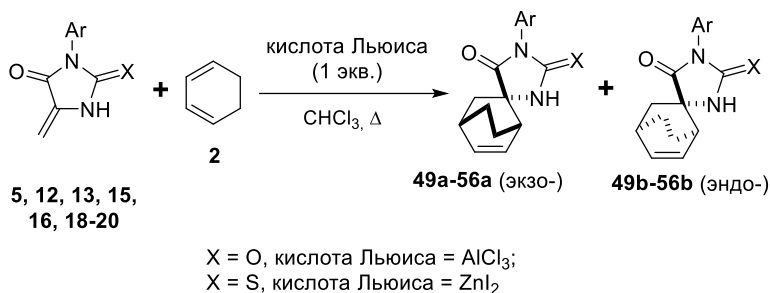


Имидазолонь **24-26**, содержащие в своей структуре три- и тетразамещённые экзоциклические двойные связи, в аналогичных условиях не образовывали продукты циклоприсоединения даже в следовых количествах.

2.2. Реакции с 1,3-циклогексадиеном

В отличие от взаимодействия с циклопентадиеном, реакции 5-метилендимидазолонов с менее активными диенами **2-4** не протекают даже при кипячении в толуоле с 20-кратным избытком диенов. Поэтому нами была изучена возможность использования $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$, AlCl_3 и ZnI_2 в качестве кислот Льюиса, способных катализировать реакцию Дильса-Альдера соединений **5, 12, 13, 15, 16** и **18-20** с диеном **2** (Схема 8, Таблица 2).

Схема 8.



*Рис. 2. Молекулярная структура соединения **56a**.*

Таблица 2. Продукты реакции Дильса-Альдера 5-метилендимидазолонов **5, 12, 13, 15, 16** и **18-20** с 1,3-циклогексадиеном

продукт	X	Ar	кислота Льюиса	выход a , %	выход b , %
49a + 49b	O	Ph	AlCl_3	16	0
50a + 50b	S	Ph	ZnI_2	54	19
51a + 51b	S	2- FC_6H_4	ZnI_2	44	15
52a + 52b	S	3- MeC_6H_4	ZnI_2	60	25
53a + 53b	S	3- MeOC_6H_4	ZnI_2	51	21
54a + 54b	S	4- ClC_6H_4	ZnI_2	55	20
55a + 55b	S	4- MeOC_6H_4	ZnI_2	50	19
56a + 56b	S	2,6- $\text{Me}_2\text{C}_6\text{H}_3$	ZnI_2	44	15

Было обнаружено, что под действием $\text{BF}_3 \cdot \text{Et}_2\text{O}$ исходные диен и диенофил быстро разлагаются без образования целевых продуктов Дильса-Альдера, в присутствии AlCl_3 диен **2** вступал в реакцию с метилиденгидантоином **5**, а при использовании ZnI_2 [4+2]-циклоприсоединение эффективно протекало для тиогидантоинов **12**, **13**, **15**, **16** и **18-20**.

2.3. Реакции с 2,3-диметилбутадиеном

Взаимодействие имидазолонов **5-7** и **11-21** с 2,3-диметилбутадиеном протекает при катализе кислотами Льюиса AlCl_3 или ZnI_2 (Схема 9, Таблица 3).

Схема 9.

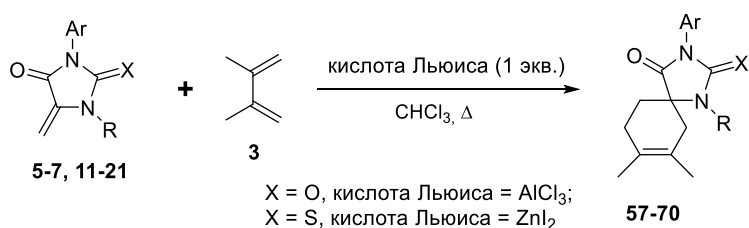


Таблица 3. Продукты реакции Дильса-Альдера 5-метилиденимидазолонов с 2,3-диметилбутадиеном

продукт	X	Ar	R	кислота Льюиса	выход, %
57	O	Ph	H	AlCl_3	47
58	O	Ph	Ac	AlCl_3	44
59	O	Ph	COOEt	AlCl_3	33*
60	O	Ph	CONHPh	AlCl_3	29*
61	S	Ph	H	ZnI_2	92
62	S	2- FC_6H_4	H	ZnI_2	84
63	S	2- ClC_6H_4	H	ZnI_2	71
64	S	3- MeC_6H_4	H	ZnI_2	85
65	S	3- MeOC_6H_4	H	ZnI_2	79
66	S	4- FC_6H_4	H	ZnI_2	74
67	S	4- ClC_6H_4	H	ZnI_2	82
68	S	4- MeOC_6H_4	H	ZnI_2	88
69	S	2,6- $\text{Me}_2\text{C}_6\text{H}_3$	H	ZnI_2	68
70	S	3-Cl,4- FC_6H_3	H	ZnI_2	81

* целевое соединение образуется в виде неразделимой смеси с исходным диенофилом, которую можно отделить от остальных продуктов реакции методом колоночной хроматографии. Выход рассчитывался по данным ^1H ЯМР спектра смеси продукта и исходного метилиденгидантоина.

Было обнаружено, что под действием AlCl_3 реакция диена **3** с гетероциклами **5-7** и **11** протекает с умеренными выходами с образованием продуктов **57-60**. Так же, как и

циклогексадиен, 2,3-диметилбутадиен в присутствии ZnI_2 легко реагирует с тиогидантоинами **12-21** с образованием целевых соединений **61-70** с высокими выходами.

2.4. Реакции имидазолонов с изопреном

На примере изопрена **4** была изучена региоселективность реакции Дильса-Альдера с имидазолонами **5**, **12**, **14-16**, **18** и **19**. Кипячение гидантоина **5** в хлороформе с 10-кратным избытком диена в присутствии кислоты Льюиса привело к образованию продукта **71a** с выходом 70% и следовым количеством минорного региоизомера **71b**. В аналогичных условиях тиогидантоины **12**, **14-16**, **18** и **19** с хорошими выходами образуют неразделимую смесь региоизомеров **72a-77a** и **72b-77b** в соотношении 87:13 (Схема 10, Таблица 4).

Схема 10.

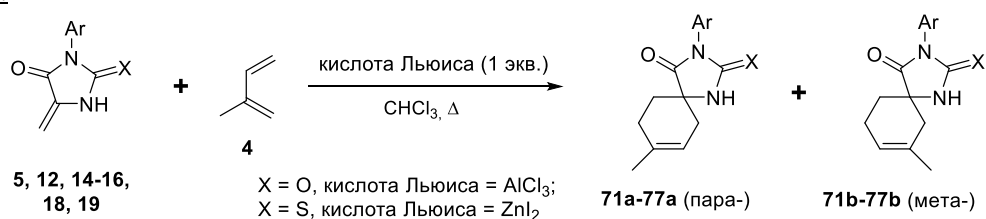


Таблица 4. Продукты реакции Дильса-Альдера 5-метиленимидазолонов **5**, **12**, **14-16**, **18** и **19** с изопреном

продукт	X	Ar	кислота Льюиса	пара:мета ^a	выход ^b , %
71a + 71b	O	Ph	$AlCl_3$	> 95:5	70 (>95:5)
72a + 72b	S	Ph	ZnI_2	87:13	82 (87:13)
73a + 73b	S	2-ClC ₆ H ₄	ZnI_2	87:13	61 (94:6)
74a + 74b	S	3-MeC ₆ H ₄	ZnI_2	87:13	64 (89:11)
75a + 75b	S	3-MeOC ₆ H ₄	ZnI_2	87:13	76 (90:10)
76a + 76b	S	4-ClC ₆ H ₄	ZnI_2	87:13	68 (87:13)
77a + 77b	S	4-MeOC ₆ H ₄	ZnI_2	87:13	71 (80:20)

^a по данным 1H ЯМР спектра реакционной смеси. ^b выход для выделенной смеси основного и минорного продукта. В скобках указано соотношение изомеров.

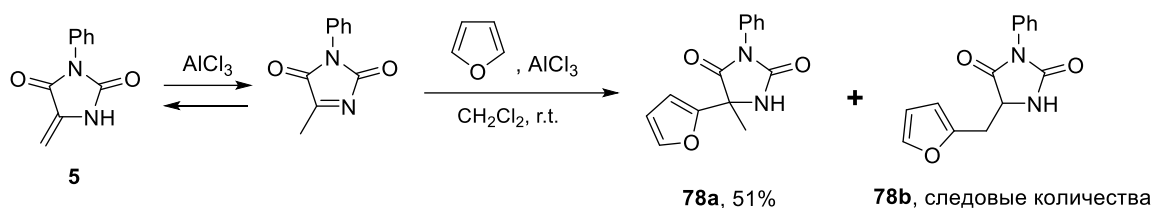
Строение региоизомеров было доказано методом 1H - ^{13}C НМВС ЯМР спектроскопии на примере структур **74a** и **74b**.

Полученные результаты демонстрируют, что $AlCl_3$ является эффективным катализатором взаимодействия малоактивных диенов с любыми метиленимидазолонами, а ZnI_2 – только с тиогидантоинами, что позволяет с хорошими выходами получить спироциклические имидазолы с различными липофильными каркасами.

2.5. Реакции с производными фурана и тиофена

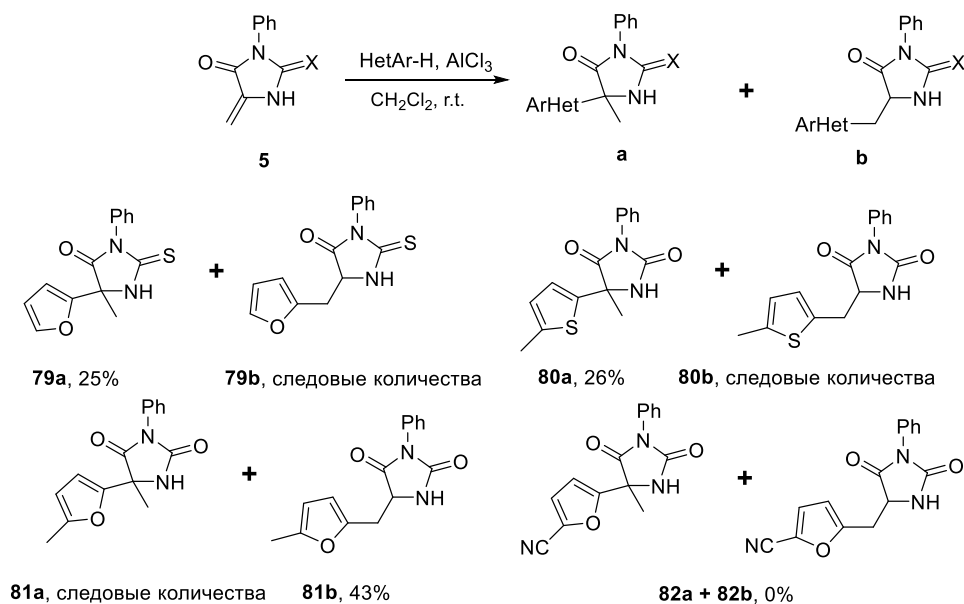
Возможность фурана вступать в реакции с метилиденовыми производными была исследована на примере имидазолонов **5** и **12**. Как и в случае диенов **2-4**, фуран не реагировал с этими субстратами в отсутствие катализатора. При непродолжительном выдерживании смеси фуран- AlCl_3 с последующим добавлением гидантоина **5** удалось выделить аддукт присоединения **78a**. В ЯМР спектрах реакционной смеси также был зафиксирован в следовых количествах продукт **78b**, образующийся в результате взаимодействия преобладающей енаминной формы гидантоина с комплексом фуран- AlCl_3 .

Схема 11.



В тех же условиях на примере метилиденимидазолонов **5** и **12** была изучена реакция с производными фурана и тиофена. Результаты приведены на Схеме 12.

Схема 12.



Полученные результаты демонстрируют, что в случае взаимодействия метилиденимидазолонов с различными фуранами и тиофенами образуются продукты еновой реакции, а не аддукты [4+2]-циклоприсоединения.

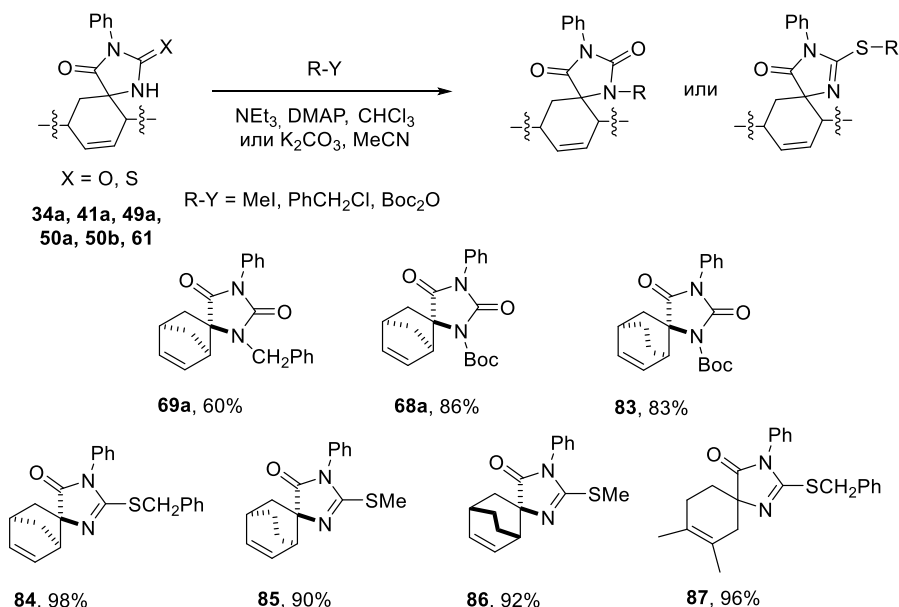
2.6. Алкилирование и ацилирование продуктов **34a**, **41a**, **49a**, **50a**, **50b** и **61**

При исследовании реакций Дильса-Альдера с метилиденимидазолонами **5-12** было обнаружено, что в случае N(1)-незамещённых исходных соединений **5** и **12** образующаяся диастереомерная пара спироциклических гетероциклов может быть успешно разделена на

индивидуальные изомеры, тогда как N(1)-замещённые производные гидантоина образуются либо в виде неразделимой смеси диастереомеров, либо с крайне низким выходом (см. Схему 6, Таблицу 1). Это делает невозможным их получение с препаративными выходами. Поэтому нами была изучена возможность пост-модификации по атому азота N(1)-незамещённых спиропроизводных **34a**, **41a**, **49a**, **50a**, **50b** и **61**, которые могут быть выделены в индивидуальном виде методом колоночной хроматографии.

Мы обнаружили, что гидантоины **34a**, **49a** с высокими выходами могут быть проалкилированы или проацилированы действием PhCH₂Cl или Boc₂O при кипячении в хлороформе или ацетонитриле (Схема 13).

Схема 13.



В отличие от гидантоинов **34a** и **49a**, тиогидантоины **41a**, **50a**, **50b** и **61** алкилируются MeI и PhCH₂Cl в более мягких условиях при комнатной температуре в ацетонитриле в присутствии K₂CO₃, но исключительно по атому серы.

3. Взаимодействие спироциклических имидазолонов с 1,3-диполями

В третьей части работы исследовались синтетические трансформации продуктов реакции Дильса-Альдера **34-77**, приводящие к введению в целевые молекулы различных фармакофорных фрагментов. Так, нами были исследованы реакции [3+2]-циклоприсоединения по кратным связям спироимидазолонов **34a**, **41a**, **43a**, **44a**, **46a**, **50a**, **50b**, **61**, **65**, **67** и **90**. В качестве 1,3-диполей были изучены нитрилоксиды, нитрилимины и азиды. Получаемые аддукты обладают ограниченной конформационной подвижностью, что может улучшить их связывание с биологическими мишенями.

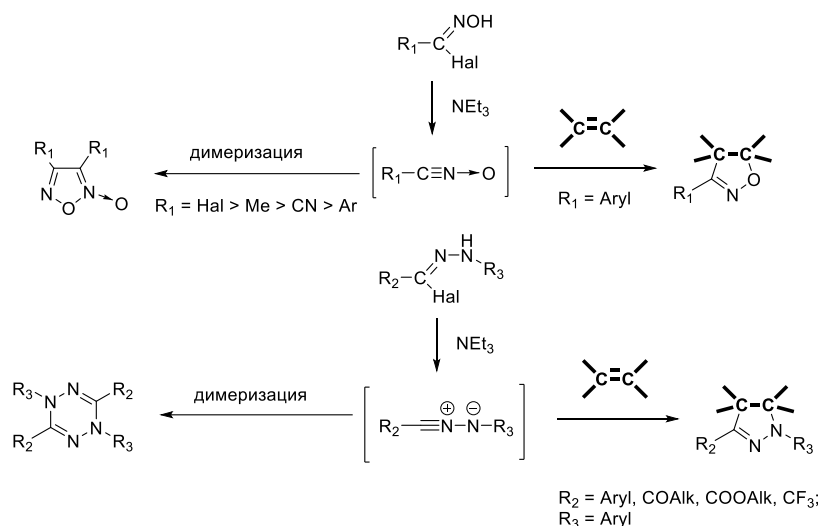
3.1. Реакции спироимидазолонов с нитрилоксидами и нитрилиминами

3.1.1. Метод диффузионного смешивания реагентов

Среди известных 1,3-диполей нитрилоксида и нитрилимина являются важными интермедиатами в синтезе функционализированных пятичленных гетероциклов. Присоединение этих диполей к двойной C=C связи протекает селективно в мягких условиях и может применяться для модификаций как простых алкенов, так и сложных полифункциональных молекул.

Синтетически удобным способом генерации нитрилоксидов и нитрилиминов является дегидрогалогенирование соответствующих N-гидроксимоил- и гидразонилгалогенидов, однако образующиеся *in situ* диполи склонны к димеризации, скорость которой существенно зависит от стерических (и в меньшей степени от электронных) эффектов заместителей в нитрилоксидах и нитрилиминах (Схема 14).

Схема 14.



Для подавления нежелательной димеризации диполей в реакциях 1,3-диполярного циклоприсоединения нитрилиминов и нитрилоксидов нами впервые был предложен исключительно простой и удобный метод их генерации путем диффузионного смешивания третичного амина с N-гидроксимоил- и гидразонилгалогенидами. Прибор, в котором происходит диффузионное смешение агентов, представляет собой небольшую виалу, помещённый внутри виалы большего размера (Рис. 3).

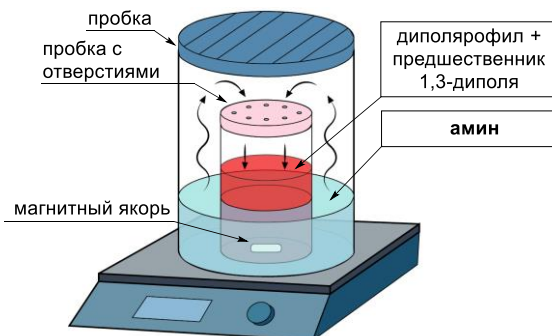


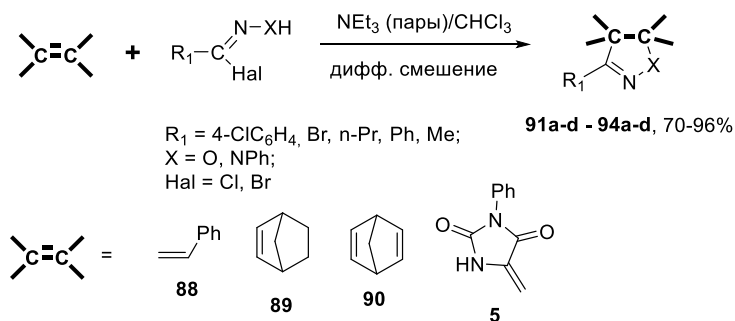
Рис. 3. Прибор для диффузионного смешивания реагентов.

Во внутреннюю виалу с магнитным якорем загружается смесь исходного алкена и гидроксимоилгалогенида или имидоилхлорида в органическом растворителе. Стоит отметить, что компоненты реакции не обязательно должны быть полностью растворимы в реакционной среде, что является достоинством метода по сравнению с использованием проточных реакторов. Внешняя ёмкость содержит 100-200 кратный избыток третичного амина (NEt_3 , также могут быть использованы NMe_3 или $i\text{-PrNEt}_2$), который медленно испаряется и попадает во внутреннюю виалу с реакционной смесью. Предложенная методика является простой в синтетическом исполнении, не требует использования специализированного оборудования, и может быть легко расширена на другие органические реакции, протекающие через дегидрогалогенирование.

Важнейшим различием между диффузионным смешением амина и постепенным прикапыванием его раствора в реакционную смесь является то, что в случае диффузии за небольшой промежуток времени в реакцию вводится очень малое количество амина; это приводит к образованию следовых количеств нестабильного диполя, который мгновенно вступает в реакцию с алкеном. В случае прикапывания количество амина изменяется скачкообразно, что приводит к одновременному образованию большого количества молекул диполя, которые помимо основной реакции [3+2]-циклоприсоединения могут взаимодействовать друг с другом (см. Схему 14).

Возможности метода диффузионного дегидрогалогенирования были нами продемонстрированы на примерах 1,3-диполярного циклоприсоединения нитрилоксидов и нитрилиминов к диполярофилам **5**, **88-90** (Схема 15). Важно отметить, что олефины **88-90** не содержат сильных акцепторных заместителей при двойной $\text{C}=\text{C}$ связи и, как следствие, медленно вступают в реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения. На примере метилиденгидантоина **5** была продемонстрирована применимость методики диффузионного смешивания к активированным алкенам.

Схема 15.



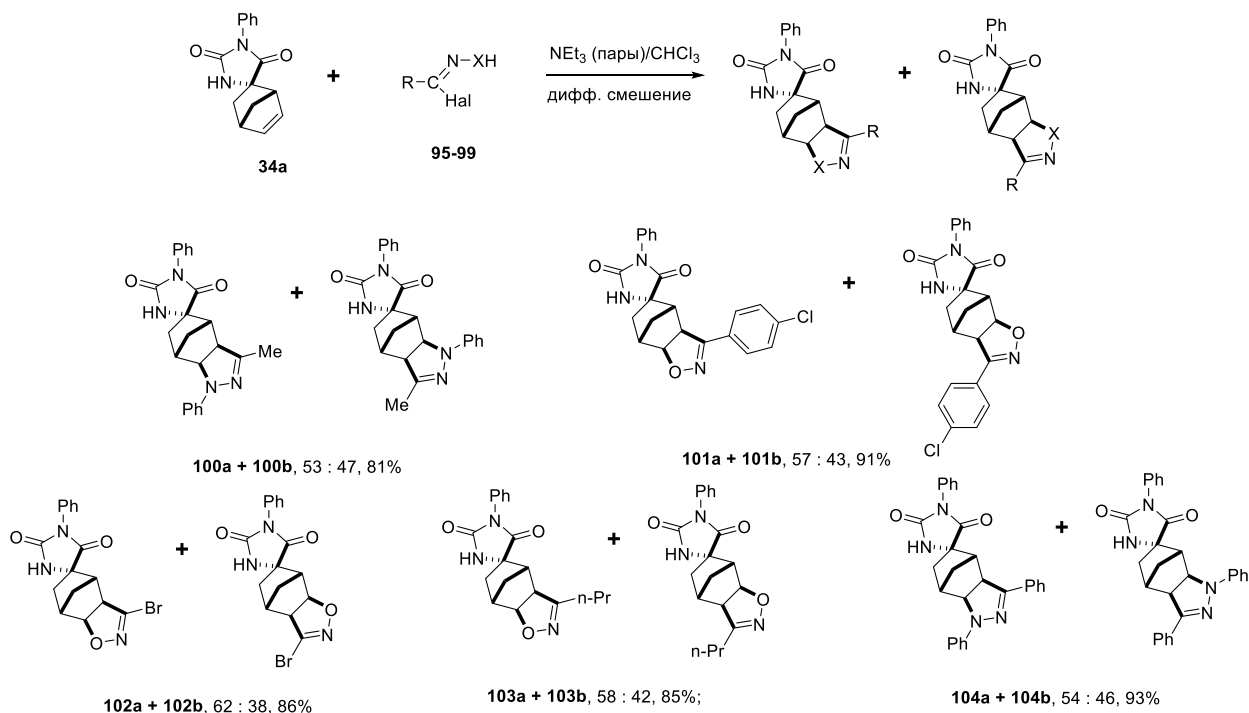
Во всех случаях было показано, что целевые гетероциклы **91-94** образуются с высокими выходами вне зависимости от реакционной способности исходных

диполярофилов и скорости димеризации образующихся *in situ* диполей. По сравнению с литературными данными проведение реакций в описанных условиях особенно эффективно в случае взаимодействия малоактивных олефинов с высокорекреакционными 1,3-диполями, когда использование классического метода прикапывания раствора амина в реакционную смесь приводит к образованию значительных количеств нежелательных продуктов разложения нитрилоксидов и нитрилиминов.

3.1.2. Реакции спирогидантоинов с нитрилоксидами и нитрилиминами

Далее нами были исследованы реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения к спирогидантоину **34a** по методу диффузионного смешивания с триэтиламин (Схема 16). Было показано, что целевые гетероциклы образуются в виде неразделимых смесей изомеров **100-104** с высокими выходами вне зависимости от скорости димеризации промежуточно образующихся диполей.

Схема 16.

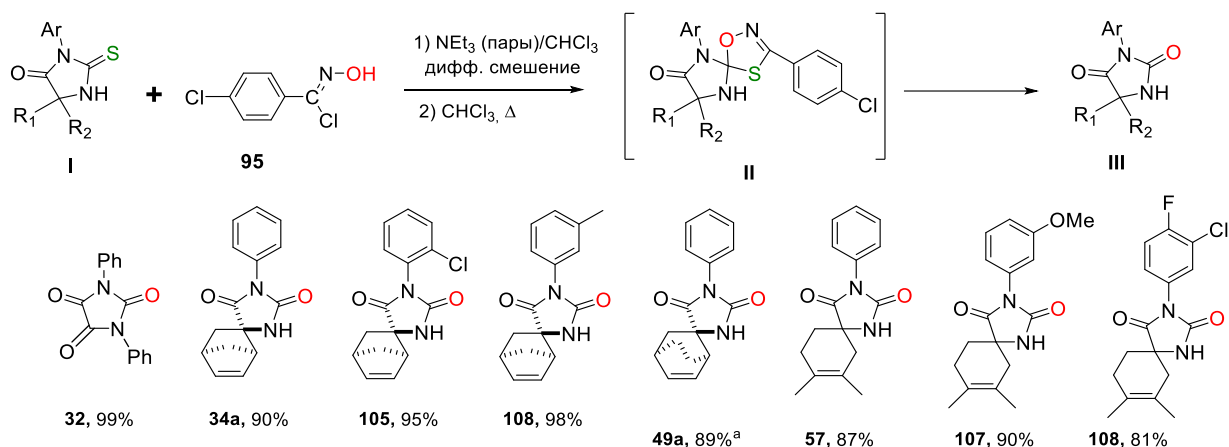


Строение соединений **100a**, **100b** и **102a**, **102b** было подтверждено методами gHSQC и gHMBC.

3.1.3. Реакции спирогиогидантоинов с нитрилоксидами и нитрилиминами

В тех же условиях была изучена реакция 1,3-диполярного циклоприсоединения нитрилоксидов к тиогидантоинам **33**, **41a**, **43a**, **44a**, **50a**, **61**, **65** и **90**. Было обнаружено, что присоединение этих 1,3-диполей с высокой селективностью протекает по связи C=S, и в качестве основных продуктов из реакционной смеси могут быть выделены соответствующие гидантоины **32**, **34a**, **49a**, **57** и **105-108** (Схема 17).

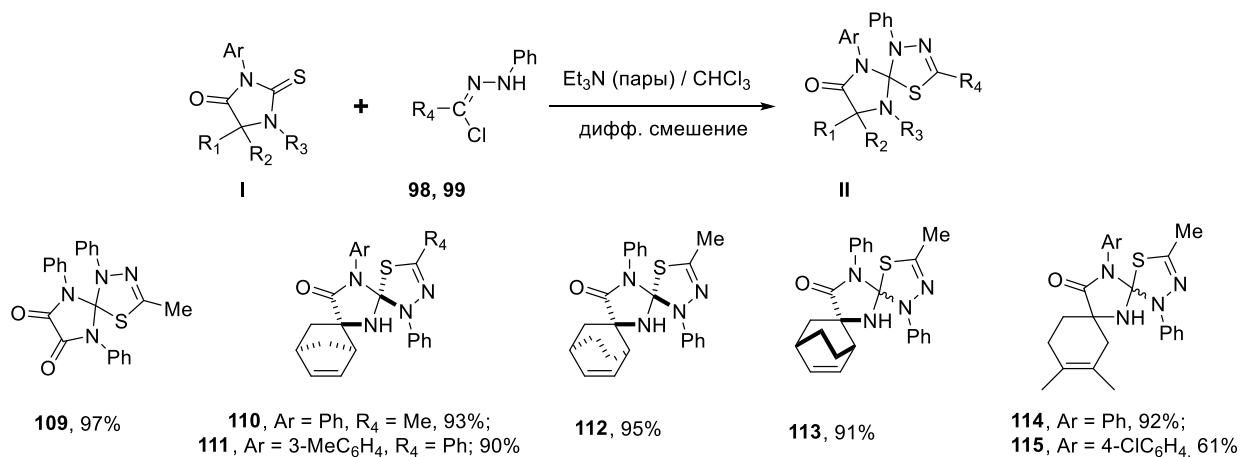
Схема 17.



^a Образуется в смеси с неотделимой примесью продуктов присоединения диполя по $\text{C}=\text{C}$ связи (около 10%, по данным ^1H ЯМР спектров).

Нитрилимины также могут избирательно реагировать со спиротиогидантоинами по связи $\text{C}=\text{S}$, в этом случае образующиеся аддукты [3+2]-циклоприсоединения являются стабильными соединениями и могут быть выделены и охарактеризованы (Схема 18).

Схема 18.



Согласно данным NOESY ^1H - ^1H ЯМР спектра соединения **112**, нитрилимины присоединяются к *экзо*-изомерам **41a**, **44a** и **50a** со стороны, противоположной $(\text{CH}_2)_n$ мостику каркаса. К сожалению, конфигурацию продукта **113** не удалось установить методами двумерной ЯМР спектроскопии, но можно предположить, что *эндо*-расположение заместителей в бициклическом каркасе оказывает аналогичное влияние на подход диполя к субстрату.

На основании полученных результатов можно сделать вывод, что взаимодействие нитрилоксидов и нитрилиминов с тиогидантоинами **41a**, **43a**, **44a**, **50a**, **50b**, **61**, **65**, **67** и **70** преимущественно протекает по более реакционноспособной $\text{C}=\text{S}$ связи диполярофилов, а не по эндоциклической связи $\text{C}=\text{C}$.

3.2. Реакции спироимидазолонов с азидами

В отличие от большинства 1,3-диполей, органические азиды являются стабильными соединениями при нормальных условиях, которые могут быть выделены в индивидуальном виде. Реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения азидов были изучены нами на примере гидантоина **34a** (Схема 19, Таблица 5). Мы обнаружили, что в ходе реакции могут образовываться как триазилины **116**, **117**, так и азиридины **118**, которые можно различить методами ЯМР спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения. В случае образования триазилинов увеличение температуры реакции позволяет значительно ускорить протекание 1,3-диполярного циклоприсоединения, но приводит к падению селективности образования изомеров **116**, **117**.

Схема 19.

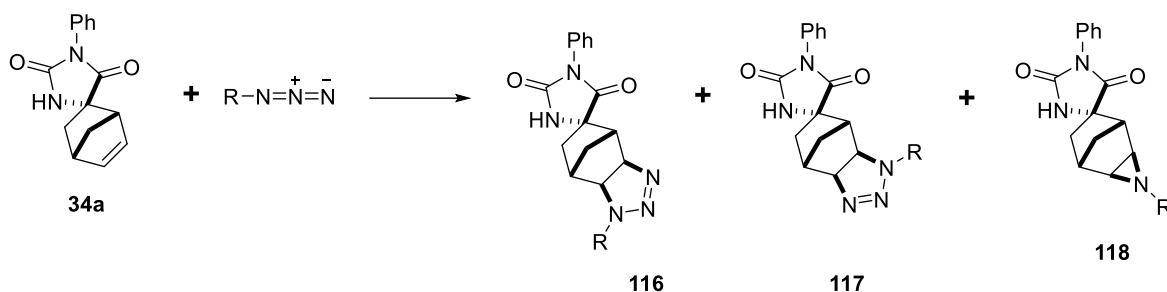


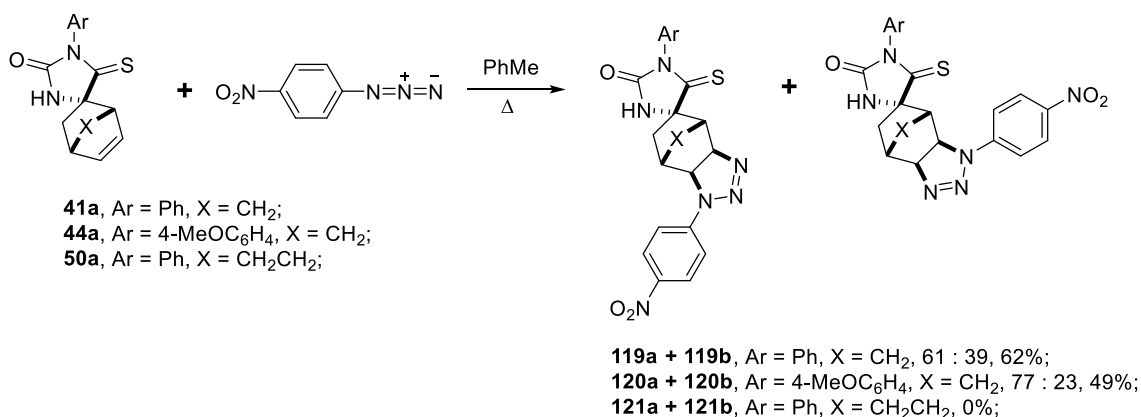
Таблица 5. Взаимодействие азидов со спирогидантоином **34a**.

R	условия реакции	выход 116+117 , %	выход 118 , %
4-NO ₂ C ₆ H ₄	бензол, r.t., 30 дней	65 (68 : 32)	0
	бензол, Δ, 36 часов	86 (63 : 37)	0
	толуол, Δ, 36 часов	83 (57 : 43)	0
	<i>орто</i> -ксилол, Δ, 36 часов	0	0
4-BrC ₆ H ₄	бензол, Δ, 36 часов	35 (68 : 32)	0
2-NO ₂ C ₆ H ₄	толуол, Δ, 36 часов	0	следовые количества
	бензол, r.t., 183 дня	0	следовые количества
2-BrC ₆ H ₄	бензол, r.t., 183 дня	0	следовые количества
Ph	толуол, Δ, 36 часов	0	32
Ts	толуол, Δ, 36 часов	0	23
	бензол, r.t., 150 дня	0	25

В отличие от 4-нитрофенилазида и 4-бромфенилазида, взаимодействие других азидов со спирогидантоином **34a** приводит к образованию азиридинов **118** с низкими выходами (Схема 19, Таблица 5).

При кипячении в толуоле в реакциях с 4-нитрофенилазидом были изучены тиогидантоины **41a**, **44a** и **50a**. Оказалось, что в случае имидазолонов **41a** и **44a**, содержащих норборненовый каркас, взаимодействие с 4-нитрофенилазидом протекает с образованием неразделимой смеси региоизомеров **a** и **b** с хорошими выходами (Схема 20). В тех же условиях реакция с соединением **50a** не приводила к образованию продуктов даже в следовых количествах (по данным ^1H ЯМР спектра реакционной смеси). По всей видимости, различные результаты взаимодействия азидов с тиогидантоинами **41a**, **44a** и **50a** связаны с разной напряжённостью бициклических каркасов этих диполярфилов, что влияет на реакционную способность $\text{C}=\text{C}$ связи.

Схема 20.



В целом, реакция гидантоинов **34a** и тиогидантоинов **41a**, **44a** с азидами имеет ограниченное применение в синтезе конформационно ограниченных имидазолонов из-за относительно слабой реакционной способности органических азидов и исходных диполярфилов, а также из-за возможного протекания побочных процессов.

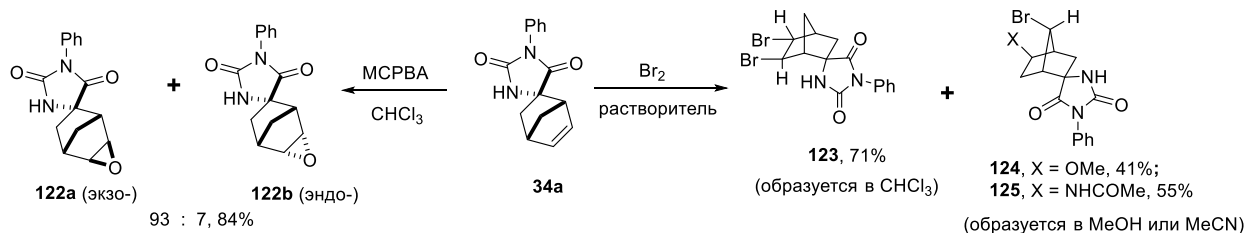
4. Взаимодействие спироциклических гидантоинов с пероксосоединениями и электрофильными агентами

Помимо синтеза спироимидазолонов, содержащих в своей структуре изоксазолиновые, пиразолиновые и триазолиновые фрагменты, нами были изучены реакции эпексидирования и электрофильного присоединения по двойной $\text{C}=\text{C}$ связи аддуктов [4+2]-циклоприсоединения. Образующиеся в ходе взаимодействия продукты содержат различные экзоциклические заместители в структуре конформационно жёсткого липофильного каркаса, что позволяет изменять его электронные и стерические характеристики и может повысить биологическую активность синтезируемых молекул.

Примеры синтетических трансформаций спироимидазолонов, которые были исследованы в настоящей работе, представлены на Схеме 21. Было показано, что в случае взаимодействия N(1)-незамещённого спирогидантоина **34a** с бромом и *мета*-

хлорпероксибензойной кислотой образуются соответствующие продукты **122-125** с хорошими выходами.

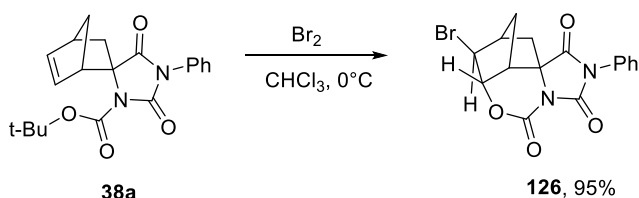
Схема 21.



На основании данных, полученных при изучении присоединения брома к спироимидазолону **34a**, нами был разработан синтетический подход к получению полициклических гидантоинов, заключающийся в последовательных реакциях [4+2]-циклоприсоединения к N(1)-замещённому метилиденгидантоину и дальнейшем присоединении электрофильного агента по двойной C=C связи образовавшегося каркасного олефина с последующей атакой собственной уретановой группировки молекулы в качестве внутреннего нуклеофила.

Реализация данного подхода была продемонстрирована на примере взаимодействия брома со спирогидантоином **38a**. Мы обнаружили, что в ходе реакции практически с количественным выходом образуется тетрациклический оксазинанон **126** (Схема 22), который может быть легко выделен из реакционной смеси методом колоночной хроматографии.

Схема 22.



Взаимодействие с бромом производного гидантоина **36a**, который содержит группу COOEt в положении N(1) гетероцикла, также привело к образованию полициклического продукта **126**. Помимо брома, в качестве электрофильных агентов в реакции с соединением **36a** могут быть использованы I₂, PhSCl или PhSeBr. При взаимодействии этих реагентов с гидантоином **36a** из реакционной смеси с хорошими выходами были выделены оксазинаноны **127-129** (Схема 23, Таблица 6).

Схема 23.

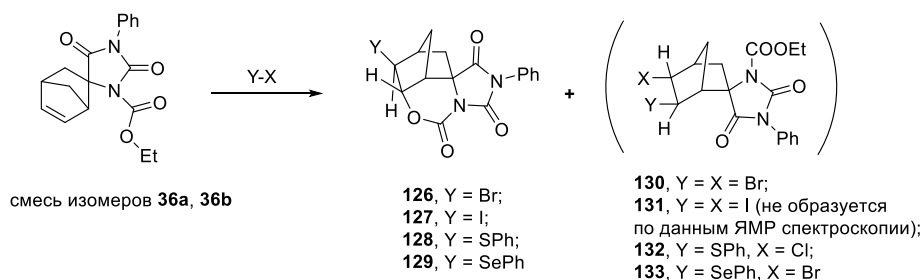


Таблица 6. Продукты взаимодействия гидантоинов **36** с различными электрофильными агентами

продукт	Y	условия реакции	выход, %
126	Br	Br ₂ (1 экв.), CHCl ₃ , 0 °С	73
127	I	I ₂ (1 экв.), CHCl ₃ , 0 °С	76
128	SPh	PhSCl (1 экв.), CHCl ₃ , 0 °С	70
129	SePh	PhSeBr (1 экв.), CHCl ₃ , 0 °С	73

Мы также изучили взаимодействие электрофильных агентов Br₂, I₂ и PhSCl с гидантоином **59**, который содержит относительно инертную тетразамещённую двойную C=C связь. В результате реакции **59** с бромом был выделен оксазинанон **134** с хорошим выходом (Схема 24). Важно подчеркнуть, что в литературе не было найдено примеров реакций циклизации под действием электрофильного агента, протекающих по тетразамещённой двойной связи. Структура соединения **134** была подтверждена методом рентгеноструктурного анализа (Рис. 4).

Схема 24.

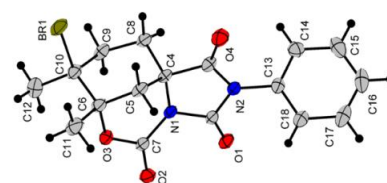
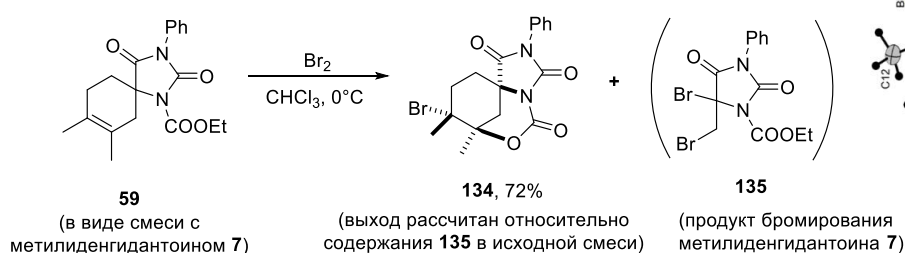


Рис. 4. Молекулярная структура соединения **134**.

I₂ и PhSCl не взаимодействовали с гидантоином **59** в условиях, аналогичных реакции бромирования спирогидантоина **59**, а также при кипячении в хлороформе.

5. Исследование цитотоксичности синтезированных соединений

Некоторые из полученных спироциклических имидазолонов были протестировали на цитотоксичность с помощью стандартного МТТ-теста. Цитотоксичность оценивали с использованием клеточных линий различной этиологии: рака молочной железы MCF7, карциномы легкого человека A549, нераковой клеточной линии эмбриональной почки человека HEK293T и клеточной линии нераковых фибробластов легкого VA13.

Большинство тестируемых соединений проявляли низкую или умеренную цитотоксичность по отношению ко всем указанным клеточным линиям. Кроме того, тестируемые соединения проявляют небольшую селективность ко всем тестируемым клеточным линиям.

Среди продуктов реакции Дильса-Альдера относительно высокую цитотоксичность с селективностью по отношению к клеточной линии НЕК293Т показали аддукты циклоприсоединения 2,3-диметилбутадиена **63**, **67** и **69** (Таблица 7). Результаты исследования смеси пиразолинов **100a** + **100b** демонстрируют, что введение пятичленных гетероциклических фрагментов в структуру липофильного каркаса аддукта **34a** приводит к существенному увеличению цитотоксичности получаемых соединений, однако в этом случае наблюдается низкая селективность по отношению к раковым и нераковым клеткам. В ряду оксазинанонов **127**, **129** и **134** наиболее высокой активностью обладало соединение **129**, содержащее группу PhSe, а для структур **127** и **134** наблюдалась низкая цитотоксичность по отношению ко всем типам клеток.

Таблица 7. Цитотоксичность некоторых спироциклических имидазолонов (МТТ-тест, мкМ)

соединение	клеточная линия			
	НЕК293Т	MCF7	VA13	A549
63	~5	~100	>>100	~10
67	4,4±0,6	76,6±16	52,6±7,8	26,2±3,9
69	~4	~100	Н/Д	~10
100a + 100b	5,9±0,3	6,3±0,3	10,7±1,1	9,4±0,5
129	13,2±0,5	17,4±1	14,8±0,9	9,3±0,6

Выводы

- 1) Предложена общая методология диастереоселективного синтеза спиропроизводных гидантоинов и тиогидантоинов реакциями Дильса-Альдера 5-метилен-замещённых 2-халькогенимидазолонов с циклическими и ациклическими диенами.
- 2) Разработаны препаративные методы синтеза спироциклических гидантоинов и тиогидантоинов, содержащих изоксазолиновые, пиразолиновые, триазолиновые, азиридиновые и эпоксидные фрагменты, реакциями спироимидазолонов с нитрилоксидами, нитрилиминами, азидами и пероксокислотами.
- 3) Предложены методы синтеза полициклических спиросоединений, содержащих оксазиновые фрагменты, при взаимодействии продуктов реакции Дильса-Альдера 5-метиленимидазолонов с электрофильными агентами.

- 4) Предложен новый эффективный способ проведения реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения методом диффузионного смешивания хлороксимов и хлоргидразонов с парами триэтиламина, позволяющим равномерно и в малых количествах генерировать реакционноспособные интермедиаты. Эффективность метода диффузионного смешивания продемонстрирована на примерах реакций 1,3-диполярного присоединения по кратным связям C=C и C=S.
- 5) Для ряда спирогидантоинов и спиротиогидантоинов обнаружена умеренная цитотоксическая активность на клеточных линиях MCF7, A549, HEK293T и VA13.

Основные результаты работы изложены в публикациях:

Публикации в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ:

- 1) **Shybanov, D. E.**; Kukushkin, M. E.; Hrytseniuk, Y. S.; Grishin, Y. K.; Roznyatovsky, V. A.; Tafeenko, V. A.; Skvortsov, D. A.; Zyk, N. V.; Beloglazkina, E. K. [4+2]-Cycloaddition to 5-methylidene-hydantoins and 5-methylidene-2-thiohydantoins in the synthesis of spiro-2-chalcogenimidazolones // International Journal of Molecular Sciences. — 2023. — Vol. 24, no. 5. — P. 5037. **IF = 6,208 (Web of Science)**.
- 2) Kukushkin, M. E.; Karpov, N. A.; **Shybanov, D. E.**; Zyk, N. V.; Beloglazkina, E. K. A convenient synthesis of 3-aryl-5-methylidene-2-thiohydantoins // Mendeleev Communications. — 2022. — Vol. 32. — P. 126–128. **IF = 1,837 (Web of Science)**.
- 3) **Shybanov, D. E.**; Filkina, M. E.; Kukushkin, M. E.; Grishin, Y. K.; Roznyatovsky, V. A.; Zyk, N. V.; Beloglazkina, E. K. Diffusion mixing with a volatile tertiary amine as a very efficient technique for 1,3-dipolar cycloaddition reactions proceeding via dehydrohalogenation of stable precursors of reactive dipoles // New Journal of Chemistry. — 2022. — Vol. 46. — P. 18575–18586. **IF = 3,925 (Web of Science)**.
- 4) **Shybanov, D. E.**; Kukushkin, M. E.; Tafeenko, V. A.; Zyk, N. V.; Grishin, Y. K.; Roznyatovsky, V. A.; Beloglazkina, E. K. Different addition modes of cyclopentadiene and furan at methylidene(thio)hydantoins // Mendeleev Communications. — 2021. — Vol. 31. — P. 246–247. **IF = 1,837 (Web of Science)**.

Дополнительные публикации

- 5) **Шибанов Д.Е.**, Филькина М.Е., Кукушкин М.Е., Белоглазкина Е.К. Диффузионное смешение с летучим реагентом как эффективный метод проведения реакций 1,3-диполярного циклоприсоединения // Всероссийская научная конференция «Марковниковские чтения: органическая химия от Марковникова до наших дней» (WSOC 2022). — Лоо, 2022. — с. 106.

- 6) Beloglazkina E.K., Kukushkin M.E., **Shibanov D.E.**, Novotortsev V.K., Filkina M.E. Spiro derivatives of indolinones and imidazolones: approaches to the synthesis via 1,3-dipolar cycloaddition // VI Северо-Кавказская конференция по органической химии. — Ставрополь, 2022. — с. 27.
- 7) Кукушкин М.Е., **Шибанов Д.Е.**, Новоторцев В.К., Филькина М.Е., Жуков Е.А., Белоглазкина Е.К. Исследование активности производных гидантоинов, тио- и селеногидантоинов в реакциях 1,3-диполярного циклоприсоединения // «Всероссийский конгресс по химии гетероциклических соединений (KOST2021)». — Москва, 2021. — с. 115.
- 8) **Шибанов Д.Е.** Синтез спироциклических имидазолонов с каркасным фрагментом в качестве потенциальных противоопухолевых агентов // Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых учёных «Ломоносов-2020». — Москва, 2020. — с. 970.