

МОСКОВСКИЙ ГОСУДАРСТВЕННЫЙ УНИВЕРСИТЕТ

имени М.В. ЛОМОНОСОВА

На правах рукописи

Поляков Владислав Сергеевич

**Производные диспироиндолинонов — потенциальные молекулы
выборочного протеолиза белка (PROTAC)**

Специальность 1.4.3. Органическая химия

ДИССЕРТАЦИЯ

на соискание учёной степени

кандидата химических наук

Москва – 2026

Оглавление

1.	Введение.....	4
2.	Обзор литературы.....	9
2.1.	Общие сведения о методологии PROTAC	9
2.1.1.	Идея и преимущества метода PROTAC.....	9
2.1.2.	Лиганды убиквитинлигаз.....	12
2.1.3.	Перспективы развития подхода PROTAC	17
2.2.	Молекулы PROTAC, прошедшие доклинические исследования.....	18
2.2.1.	Молекулы гетеро-PROTAC.....	18
2.2.2.	Молекулы гомо-PROTAC.....	31
2.3.	Спиро- и диспироиндолиноны как потенциальные противоопухолевые агенты и методы их синтеза	35
2.3.1.	Спиро- и диспироиндолиноны как биологически активные вещества	35
2.3.2.	Основные подходы к синтезу спироиндолинонового каркаса	41
2.4.	Заключение	57
3.	Обсуждение результатов.....	59
3.1.	Симметричные молекулы гомо-PROTAC на основе диспироиндолинонов.....	61
3.1.1.	Синтез бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов структурного типа I	63
3.1.2.	Синтез бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов структурных типов II и III	68
3.1.3.	Синтез бис-диспиро-имидазолон-пирролидин-индолинонов структурного типа IV	71
3.1.4.	Биологическое тестирование бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов	75
3.2.	Молекулы гетеро-PROTAC на основе диспироиндолинонов	77
3.2.1.	Молекулы PROTAC на основе диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов и помалидомида	77

3.2.2. Молекулы PROTAC на основе диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов и глутаримида.....	88
3.3. Несимметричные молекулы гомо-PROTAC на основе диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов	104
4. Экспериментальная часть.....	110
4.1. Общие сведения.....	110
4.2. Синтез соединений.....	112
4.2.1. Синтез диспиропроизводных с линкером между атомами кислорода арильного заместителя (тип I).....	112
4.2.2. Синтез диспиропроизводных с линкером между атомами азота изатинового фрагмента (тип II).....	119
4.2.3. Синтез диспиропроизводных с линкером между атомами серы фрагмента 2-тиогидантоина (тип III).....	121
4.2.4. Синтез диспиропроизводных с линкером между атомами азота в 3-м положении 2-тиогидантоина (тип IV)	124
4.2.5. Синтез конъюгатов диспироиндолинонов с помалидомидом (тип V)	137
4.2.6. Синтез конъюгатов диспироиндолинонов с глутаримидом типов VI и VII	161
4.2.7. Синтез несимметричных бис-диспироиндолинонов структурных типов VIII и IX	188
4.2.8. Синтез вспомогательных веществ	198
5. Заключение	201
6. Список сокращений и условных обозначений	202
7. Список литературы	205
8. Приложение	229

1. Введение

Актуальность темы. В 2001 году впервые было предложено использовать для терапии злокачественных опухолей молекулы PROTAC (от англ. «PROteolysisTargetingChimera»), способные активировать выборочный протеолиз онкобелков. Молекула PROTAC состоит из двух фрагментов, соединенных между собой линкером: один из фрагментов является лигандом онкобелка, а второй — лигандом E3-убиквитинлигазы этого белка. При координации обоих лигандных фрагментов молекула PROTAC притягивает целевой белок к E3-убиквитинлигазе, после чего он подвергается убиквитинированию (мечению для деградации в протеасоме, так называемый «молекулярный поцелуй смерти») и далее протеасомному расщеплению на аминокислоты. После разрушения белка-мишени молекула PROTAC высвобождается и может координироваться со следующей белковой молекулой, поэтому часто эффективными для достижения цитотоксического эффекта оказываются наномолярные концентрации PROTAC-молекул, что позволяет уменьшить количество вводимого препарата и тем самым минимизировать возможные побочные реакции организма. Однако число синтезированных к настоящему времени молекул PROTAC с доказанным механизмом действия крайне ограничено. Таким образом, разработка новых молекул выборочного протеолиза белков является актуальной задачей современной органической химии.

Существуют соединения PROTAC двух структурных типов: гомо-PROTAC и гетеро-PROTAC. В молекулах гомо-PROTAC линкером соединяются два фрагмента, одновременно являющиеся и лигандами целевого белка, и лигандами E3-убиквитинлигазы; такие молекулы способны координировать две молекулы онкобелка, которые далее убиквитинируют друг друга и подвергаются протеолизу. Молекулы гетеро-PROTAC содержат два разных функциональных фрагмента, один из которых связывается с уничтожаемым белком, а второй — с E3 убиквитинлигазой.

В настоящей диссертации разработаны методы синтеза двух типов потенциальных молекул PROTAC: бис-(диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов), в которых спироциклические фрагменты соединены между собой линкерами различной длины и природы, а также несимметричных производных, в которых диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноновый фрагмент соединён с лигандом убиквитинлигазы цереблон (CRBN) — производным глутаримида.

Степень разработанности темы. В настоящее время несколько противоопухолевых препаратов, работающих по механизму PROTAC, проходят клинические исследования: 3 вещества находятся в III фазе клинических испытаний, 11 соединений во II фазе и больше 30

молекул в I фазе клинических испытаний (по состоянию на конец 2025 г.). Так, на второй и третьей фазах клинических испытаний, соответственно, находятся соединения ARV-110 и ARV-471, предназначенные для лечения рака простаты и рака молочной железы, в которых малая молекула — лиганд андрогенового или эстрогенового рецептора — связана с производным глутаримида, являющегося известным лигандом E3-убиквитинлигазы CRBN. Однако синтез этих молекул представляет синтетическую задачу высокой сложности — например, оригинальная методика синтеза соединения ARV-741 (вепдегестранта) включает 16 стадий, что приводит к высокой стоимости конечного вещества и снижает его доступность для пациентов.

Ранее в нашей научной группе была синтезирована серия диспиро-имидазолон-пирролидин-индолинонов, которые показали высокую противоопухолевую эффективность как лиганды белка MDM2 — эндогенного ингибитора опухолевого супрессора белка p53, регулирующего клеточный цикл. Поскольку MDM2 является также и E3-убиквитинлигазой, представлялось перспективным создание молекул гомо-PROTAC и гетеро-PROTAC на основе диспироиндолинонов.

В качестве линкеров между функциональными фрагментами описанных к настоящему времени молекул PROTAC чаще всего использовали гибкие полиметиленовые или амид-содержащие линкеры. В 2021 г. на примере ингибитора белка MDM2 нутлина-3 было показано, что в молекулах типа гомо-PROTAC эффективность ингибирования целевого белка зависит от числа углеродных атомов в линкере между функциональными фрагментами. Однако подробные исследования оптимальной длины и химической природы линкера в молекулах PROTAC к настоящему времени в литературе отсутствуют.

Целью работы является разработка методов синтеза двух структурных типов диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов для использования в качестве молекул PROTAC. Первый тип — это молекулы гомо-PROTAC, в которых два диспироиндолиноновых фрагмента связаны между собой линкерами различной длины и природы. Второй тип представляет собой соединения типа гетеро-PROTAC, в которых фрагмент диспироиндолинона, способный связываться с целевым онкобелком MDM2, соединён линкером с ингибиторами E3-убиквитинлигазы — производными глутаримида.

Задачами работы являлись: (1) разработка методов получения бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов с полиметиленовыми и триазолсодержащими линкерами между спироциклическими фрагментами; (2) разработка методов синтеза соединений типа гетеро-PROTAC, в которых фрагмент диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинона связан амид- или триазол-содержащим линкером с производным глутаримида; (3)

первичное тестирование цитотоксичности и селективности действия полученных соединений в сравнении с моно-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонами.

Объекты и предмет исследования. В качестве объекта исследования были выбраны бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны с линкерами различной длины и природы между спиросочленёнными фрагментами и конъюгаты диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов с глутаримидом с амид- и триазол-содержащими линкерами между функциональными фрагментами. Предметом исследования являлось установление влияния природы, длины и положения линкера в полученных молекулах типа PROTAC на цитотоксичность соединений.

Научная новизна работы состоит в: (1) получении ранее неизвестных структурных типов молекул гомо-PROTAC и гетеро-PROTAC на основе диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов; (2) впервые предложенной методике синтеза бис-диспироиндолинонов на основе 5-арилиден-2-тиогидантоинов, соединённых между собой полиметиленовыми линкерами; (3) выявлении оптимальной для проявления цитотоксической активности длины полиметиленового линкера между спироциклическими фрагментами в бис-диспиро-индолинон-пирролидин-имидазолонах; (4) разработке методик получения несимметричных конъюгатов диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов и глутаримида с амид- и триазол-содержащими линкерами между функциональными фрагментами.

Теоретическая и практическая значимость. (1) Впервые разработаны методы получения бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов с полиметиленовыми и триазольными линкерами между функциональными фрагментами; (2) разработаны методы получения молекул типа гетеро-PROTAC, в которых структурный фрагмент диспироиндолинона соединен через амид- или триазол-содержащий линкер с фрагментом ингибитора E3-убиквитинлигазы — производным глутаримида; (3) получена серия неизвестных ранее молекул структурных типов гомо-PROTAC и гетеро-PROTAC на основе производных диспироиндолинонов; (4) проведено первичное тестирование цитотоксической активности полученных молекул PROTAC различных структурных типов в сравнении с монофункциональными диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонами.

Методология диссертационного исследования. Целевые соединения были получены с использованием реакций конденсации, ацилирования, замещения, алкилирования и циклоприсоединения. Выделение и очистка полученных соединений проводилось методами экстракции, фильтрования, перекристаллизации, колоночной хроматографии и флэш-хроматографии. Структура, состав и чистота полученных соединений определялись методами

тонкослойной хроматографии, масс-спектрометрии высокого разрешения, ИК-спектроскопии, ЯМР-спектроскопии, ВЭЖХ-МС.

Положения, выносимые на защиту:

1. Бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны, в которых два одинаковых спироиндолиноновых фрагмента соединены полиметиленовыми линкерами, можно получить реакциями 1,3-диполярного циклоприсоединения из соответствующих бис-5-арилиден-2-тиогидантоинов и азометинида, генерируемого *in situ* из саркозина и изатина.

2. Бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны, в которых два различных диспироиндолиноновых фрагмента соединены триазол-содержащим линкером, можно получить реакциями азид-алкинового циклоприсоединения пропаргил-содержащих диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов и азид-содержащих диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов.

3. Диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны, содержащие фрагменты глутаримида, связанные с диспироиндолиноновым фрагментом амид-содержащим линкером, можно синтезировать 6-стадийной последовательностью реакций исходя из ω-аминокарбоновых кислот, изотиоцианатоэтилацетата, бензальдегидов и помалидомида с использованием реакции пептидного синтеза на заключительной стадии.

4. Диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны, содержащие фрагменты глутаримида, связанные с диспироиндолиноновым фрагментом триазол-содержащим линкером, можно синтезировать реакциями азид-алкинового циклоприсоединения пропаргил-содержащих диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов и α-азидометилглутаримида.

5. Бис-диспироиндолинон-пирролидин-имидазолон и конъюгаты диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов с глутаримидом могут проявлять повышенную по сравнению с их монофункциональными аналогами цитотоксическую активность, зависящую от длины и природы линкера между функциональными фрагментами.

Публикации. По материалам диссертации опубликовано 4 статьи в рецензируемых научных изданиях, рекомендованных для защиты в диссертационном совете МГУ по специальности 1.4.3. Органическая химия.

Апробация результатов. Результаты работы были представлены в виде докладов на следующих конференциях: XXVIII Международная научная конференция студентов, аспирантов и молодых ученых «Ломоносов 2021» (2021), Первая всероссийская школа по медицинской химии для молодых ученых MEDCHEMSCHOOL2021 (2021), Всероссийская научная школа-конференция «Марковниковские чтения. Органическая химия: от Марковникова до наших

дней» (2025), Всероссийском Конгрессе «KOST-2025» по химии гетероциклических соединений (2025).

Личный вклад автора состоял в поиске и анализе литературных данных, постановке экспериментальных задач, проведения синтетических и аналитических экспериментов, обработке и интерпретации полученных результатов, подготовке материалов к публикации, представлении полученных результатов на конференциях. Автором осуществлён анализ литературных данных по теме исследования. Автор принимал участие в составлении плана исследований, проведении синтеза, обсуждении полученных результатов, подготовке их к публикации, в том числе иллюстративного материала, для (исследовательских) печатных работ, в числе которых статьи **В. С. Поляков**, Е. В. Первакова, Н. В. Зык, Е. К. Белоглазкина. Синтез бис(диспиро[индолинон-пирролидин-имидазолонов]) // *Известия Академии наук. Серия химическая.* — 2025. — Т. 74. — № 7. — С. 2092-2101. [**Polyakov V.S.**, Pervakova E. V, Zyk N. V, Beloglazkina E.K. Synthesis of bis(dispiro[indolinone-pyrrolidine-imidazolones]) // *Russian Chemical Bulletin.* – 2025. – V. 74. – № 7. – PP. 2092-2101]; **V.S. Polyakov**, E.V. Pervakova, Yu.K. Grishin, E.K. Beloglazkina. Bis-dispiro-indolinone-pyrrolidine-imidazolones with polymethylene linkers between imidazolone fragments // *Tetrahedron Letters.* – 2025. – V. 162. – P. 155589; **V. S. Polyakov**, A. A. Barashkin, Y. K. Grishin, E. A. Tarasenko, E. K. Beloglazkina. Synthesis of Chiral Dispiro-Indolinone-Pyrrolidine-Imidazolones Using (R) or(S)-1-(2,4-Dimethoxyphenyl)Ethyl Amine // *ChemistrySelect.* – 2025. – V. 10. – № 21. – P. e01276 и **Polyakov, V.S.**, Grishin, Y.K., Tafeenko, V.A., Ivanova, E.S., Pogodaeva, S.S., Moldavskii, D.V., Shtil, A.A., Beloglazkina, E.K. Dispiroindolinone-Glutarimide Conjugates: Synthesis and Evaluation as Potential Hetero-PROTACs for p53 Reactivation // *Molecules.* – 2026. – V. 31. – № 10. – P. 1602.

Структура и объём работы. Диссертационное исследование включает в себя введения, обзор литературы, обсуждение результатов, заключение, список сокращений и условных обозначений, список цитируемой литературы и приложение. Библиографический список включает 242 источника. Работа изложена на 232 страницах, включая 109 рисунков и 6 таблиц.

Автор выражает глубокую благодарность своему научному руководителю д.х.н., проф. Белоглазкиной Е. К. за чуткое руководство, всестороннюю поддержку и неоценимую помощь в ходе выполнения настоящего исследования. Автор выражает признательность д.х.н. Гришину Ю.К. (МГУ имени М.В. Ломоносова) за проведение ЯМР экспериментов, к.х.н. Тафеенко В.А. (МГУ) за проведение рентгенографических исследований, д.м.н. Штилю А.А. (НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина) и к.х.н. Скворцову Д.В. (МГУ) за проведение биологических исследований. Автор признателен всему коллективу лаборатории биологически активных органических соединений, особенно к.х.н. Филькиной М.Е. и асп. Дегтяреву А.Д. Автор также выражает признательность Поляковой А.С. и Поляковой В.В. за неоценимую помощь и поддержку.

2. Обзор литературы

Представленный обзор литературы состоит из трёх разделов: общие сведения о методологии PROTAC (раздел 2.1), молекулы PROTAC, прошедшие доклинические исследования (раздел 2.2), спиро- и диспироиндолиноны как потенциальные противоопухолевые агенты и методы их синтеза (раздел 2.3).

2.1. Общие сведения о методологии PROTAC

2.1.1. Идея и преимущества метода PROTAC

Методология PROTAC [1,2], используемая в терапии онкологических заболеваний (от англ. «**PRO**teolysis **T**Argeting **Chimera**»), заключается в селективной и направленной деградации нежелательных белков в клетках по действием активаторов выборочного протеолиза, представляющих собой гетеро- или гомобифункциональные молекулы, состоящие из трёх структурных фрагментов. Один фрагмент молекулы PROTAC способен связываться с белком-мишенью (англ. POI — «protein of interest»), второй — с E3-убиквитинлигазой данного белка. E3-убиквитинлигаза — фермент, который обеспечивает специфическое присоединение молекулы убиквитина к целевому белку через изопептидную связь в ходе каскада убиквитинирования (подробнее см. раздел 2.1.2). Третьим структурным фрагментом молекулы PROTAC является линкер, который соединяет между собой эти две части.

На Рисунке 2.1 представлена упрощённая схема действия молекулы PROTAC. Попадая в клетку, такая молекула связывается с целевым белком и образует тройной комплекс, состоящий из неё самой, белка-мишени и E3-убиквитинлигазы. Этот комплекс позволяет приблизить E3-лигазу к таргетируемому белку на расстояние, необходимое для распознавания белка и запуска убиквитинирования [3]. E3-лигаза катализирует присоединение к белку молекулы убиквитина, что для остальных убиквитинлигаз является сигналом к присоединению к данному белку следующих молекул убиквитина, в результате чего происходит полиубиквитинирование, причём было показано, что к белку должно присоединиться не менее 4 молекул убиквитина для распознавания в 26S протеасоме (белковый комплекс, разрушающий белки при помощи протеолиза, так называемый «молекулярный шредер») [4–6]. Помеченный полиубиквитиновой цепью белок попадает в протеасому, где расщепляется до составляющих его аминокислот или коротких пептидов (4–25 аминокислотных остатков); при этом высвобождаются молекулы убиквитина и молекулы PROTAC, которые могут снова связываться с целевым белком и E3-лигазой, помечая следующие молекулы белка [7]. Как только целевой белок распознаётся 26S протеасомой, его разрушение, приводящее к полному уничтожению, происходит очень быстро [8].

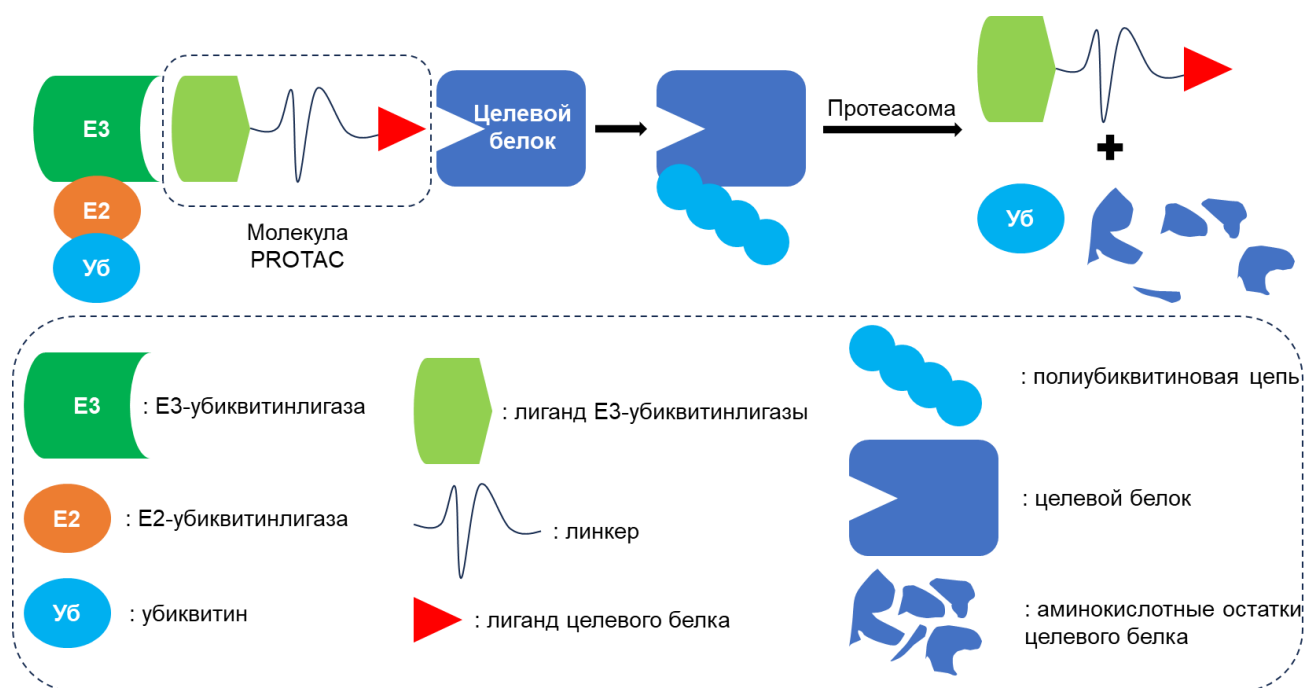


Рисунок 2.1. Расщепление целевого полиубиквитинированного белка в протеасоме до аминокислот [9]

Таким образом, молекулы PROTAC предназначены для избирательного и эффективного разложения строго определённого белка-мишени внутри клетки. Подход PROTAC отличается от применения традиционных низкомолекулярных ингибиторов, которые просто блокируют активность белка — PROTAC использует встроенный в клетку механизм деградации белков для разрушения белка-мишени [10–13].

Преимуществами молекул PROTAC по сравнению с традиционными низкомолекулярными ингибиторами являются [14–16]:

- Селективная деградация целевого белка;
- Каталитический эффект — одна молекула PROTAC способна привести к протеолизу множества молекул целевого белка. Как следствие — снижение вводимой дозы препарата, что приводит к уменьшению побочных эффектов у пациентов;
- Возможность направленного разрушения белков, имеющих малое количество активных сайтов связывания, т.к. молекуле PROTAC необходимо лишь подойти к белку на расстояние, достаточное для запуска убиквитинирования.

Например, авторы работы [17] в 2021 году представили молекулу PROTAC с шифром **MD-224** (Рисунок 2.2), взяв за основу известный ингибитор p53-MDM2 взаимодействия **MI-1061** и соединив данную молекулу с фрагментом леналидомида — низкомолекулярным веществом, способным связываться с E3 убиквитинлигазой cereblon (CRBN). Полученное соединение оказалось эффективным гетеробифункциональным ингибитором белок-белкового взаимодействия p53-MDM2 — оно индуцировало быструю деградацию белка MDM2 в клетках

лейкемии RS4;11 и вызывало полную устойчивую регрессию опухоли *in vivo* в модели ксенотрансплантированной опухоли RS4;11 у мышей при хорошо переносимых дозах ($IC_{50} = 1.5$ нМ).

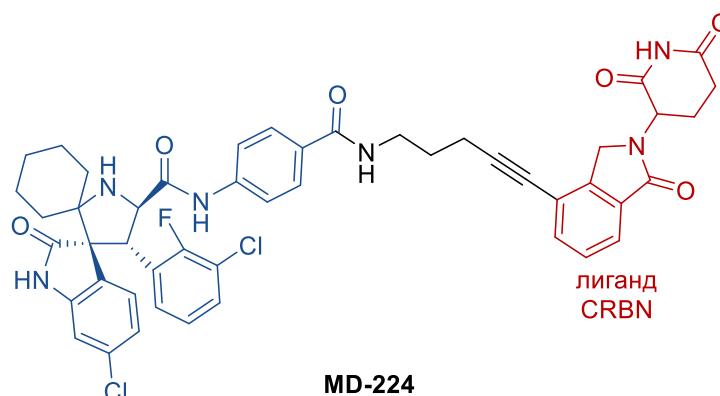


Рисунок 2.2. Структура соединения **MD-224**, в котором ингибитор p53-MDM2 **MI-1061** соединён линкером с лигандом белка cereblон¹.

Важной задачей в разработке структуры PROTAC является подбор подходящего линкера, соединяющего между собой два функциональных фрагмента молекулы. От природы, длины и гибкости линкера зависит пространственное расположение целевого белка и E3-лигазы в образующемся комплексе с целевым белком. Структура и длина линкера могут быть решающими факторами, определяющими эффективность молекулы PROTAC в качестве терапевтического препарата. Изменения в структуре линкера могут увеличивать или уменьшать эффективность деградации целевого белка, поскольку пространственное расположение в протеасоме комплекса, состоящего из молекулы PROTAC и целевого белка, имеет решающее значение для распознавания белка фосфатазами. Как правило, линкеры между функциональными фрагментами описанных к настоящему времени молекул PROTAC содержат амидные связи или полиметиленовые фрагменты, однако в последнее время появляются и другие варианты — полиэтиленгликолевые, пиперазиновые и триазол-содержащие линкеры [18].

Одной из задач при подборе линкера молекулы PROTAC является также выбор положений в молекуле лиганда белка-мишени и лиганда E3-убиквитинлигазы, через которые будет проводиться их связывание. Идеальная точка присоединения линкера должна открывать лиганду E3-убиквитинлигазы доступ к белку-мишени и при этом не мешать связыванию между малой молекулой и её целевым белком [19,20]. Обычно для присоединения линкера выбирают активные функциональные группы, доступные в структуре лиганда — например, карбоксильную или амино-группу. В случае отсутствия таких фрагментов в лиганде линкер

¹ Здесь и далее в структурах молекул гетеро-PROTAC, если не указано иное, синим цветом выделен фрагмент для связывания с целевым белком, красным — лиганд E3-убиквитинлигазы, а чёрным — линкер

может быть присоединён взамен некоторых групп в малой молекуле, не влияющих на связывание с целевым белком. Если в молекуле низкомолекулярного лиганда есть несколько возможных точек присоединения линкера, то необходимо учитывать, какие именно группы наиболее важны для связывания между его молекулой и белком [21,22]. К настоящему времени не сформулировано единых правил выбора оптимального линкера для молекул PROTAC, которые гарантировали бы успешную деградацию целевого белка, однако однозначно доказано, что изменение структуры или длины линкера может значительно менять биологическую активность соединения [23].

Молекулы PROTAC можно в зависимости от их строения разделить на две группы: 1) гомо-PROTAC, молекулы, состоящие из двух одинаковых лигандов, соединённых линкером, которые нацелены на один и тот же белок, выполняющий роль как мишени, так и E3-убиквитинлигазы; 2) молекулы типа гетеро-PROTAC, в которых линкером соединяются лиганд целевого белка и лиганд E3-убиквитинлигазы [24].

2.1.2. Лиганды убиквитинлигаз

Убиквитин — белок, состоящий из 76-ти аминокислотных остатков, который способен помечать другие белки для их выборочного расщепления в протеасоме [25]. Процесс протеолиза включает в себя последовательное действие трёх белков и состоит из следующих стадий (Рисунок 2.3):

- 1) С-концевой остаток глицина в убиквитине активируется АТФ с помощью специального энзима E1. В ходе реакции образуется тиоэфирная группа из остатка цистеина белка E1, а АТФ превращается в АМФ;
- 2) Активированный убиквитин с помощью цистеинового фрагмента убиквитин-переносящего белка E2 переносится к этому белку, при этом образуется исходный белок E1;
- 3) Третий этап убиквитинирования катализируется белком E3-убиквитинлигаза, в ходе этого этапа С-концевой остаток убиквитина связывается изопептидной связью с ε-аминогруппой фрагмента лизина целевого белка. После присоединения первой молекулы убиквитина к целевому белку формируется полиубиквитиновая цепь, в которой С-концевой остаток каждой молекулы убиквитина связывается с определённым остатком (чаще всего — ⁴⁸Lys) предыдущей молекулы убиквитина.
- 4) Целевые белки, «помеченные» полиубиквитиновой цепью, разрушаются 26S протеасомным комплексом [26], который требует гидролиза одной молекулы АТФ для его активации. В ходе распада целевого белка образуется несколько типов продуктов

— свободные белки; короткие белки (4-25 аминокислотных остатков), связанные с убиквитином через их остатки лизина; полиубиквитиновые цепи.

- 5) Далее с помощью ферментов гидролазы или изопептидазы полиубиквитиновые цепи и короткие белки с остатками убиквитина превращаются в свободные молекулы убиквитина, которые способны заново вступать в описываемый процесс.
- 6) На последней стадии образовавшиеся короткие белки под воздействием ферментов распадаются до свободных аминокислот, завершая процесс разрушения целевого белка.

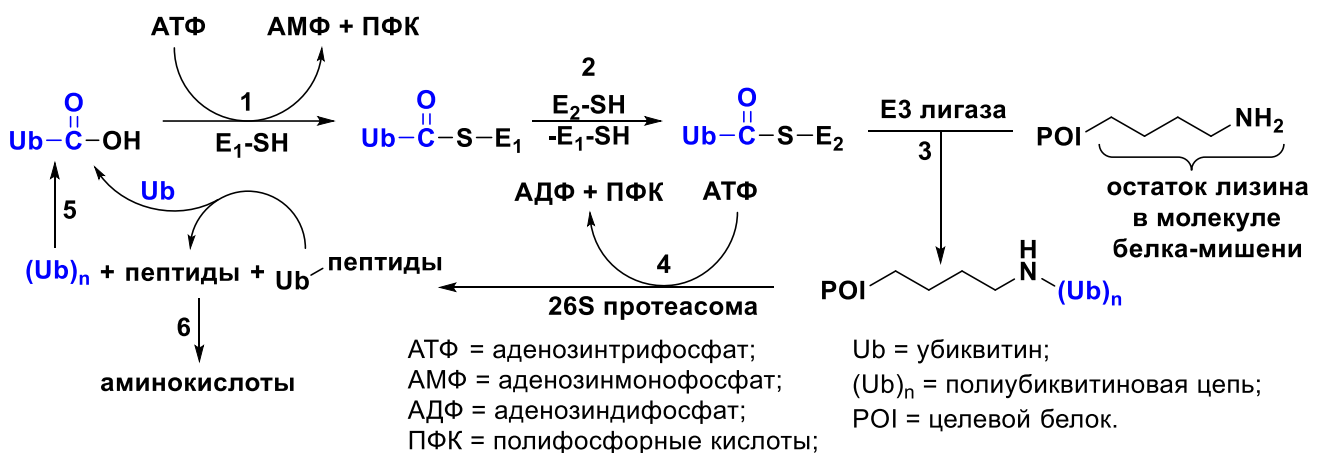


Рисунок 2.3. Схема выборочного протеолиза белков с помощью убиквитина [27,28]

В более поздних исследованиях [29–31] было показано, что среди трёх специфичных белков убиквитина (E1, E2, E3) именно E3-убиквитинлигаза играет ключевую роль во всём процессе убиквитинирования. Поэтому создание низкомолекулярных ингибиторов E3 убиквитинлигаз стало задачей исследователей в области выборочного протеолиза белков.

В настоящее время известно более 600 E3-убиквитинлигаз, входящих в состав генома человека и имеющих между собой значительные структурные отличия [32,33]. Чаще всего их объединяют в 3 большие семейства белков: RING (сокр. от англ. «really interesting new gene»), HECT (сокр. от англ. «homologous to E6AP C-terminus») и RBR (сокр. от англ. «RING-between-RING»). Эти три группы белков имеют два механизма переноса убиквитина к целевому белку — белки типа RING-E3 катализируют прямой перенос убиквитина от E2-убиквитинлигазы к субстрату, а белки двух других семейств имеют в своей структуре каталитический фрагмент цистеина, который получает молекулу убиквитина от E2-белка и затем переносит его к субстрату. В дополнение к вышеперечисленным трём группам, недавно был обнаружен новый тип E3-убиквитинлигаз, названный PCAF_N (сокр. от англ. «p300/CBP-associated factor N-terminal domain») [34].

На протяжении долгого времени считалось, что E3-убиквитинлигазы невозможно селективно связывать низкомолекулярными веществами, поскольку лигазы обычно являются многокомпонентными и многоцентровыми белками [35–37]. Вследствие этого развитие химии лигандов E3-лигаз практически не велось на протяжении первого десятилетия после открытия подхода PROTAC в 2001 году [35]. Основная проблема разработки лигандов заключалась в том, что E3-убиквитинлигазы не имеют привычных сайтов связывания, таких как у протеинкиназ или рецепторов, сопряжённых с G-белком (англ. «G-protein-coupled receptors», сокр. GPCRs) [38].

Однако в 2012-2014 гг. были получены данные о высокоэффективных низкомолекулярных соединениях, которые селективно связываются с белками VHL и CRBN, являющимися компонентами различных белковых комплексов, выступающих в качестве E3-лигаз у человека [39,40]. Позднее сайты связывания этих белков были определены кристаллографически [41,42]. После этого были открыты лиганды для таких лигаз, как MDM2 (сокр. от англ. «mouse double minute 2 homologue»), cIAP (сокр. от англ. «cellular inhibitor of apoptosis»), RNF4 и RNF114 (сокр. от англ. «RING-type zinc-finger proteins») и многих других, на основе которых получили большое количество биологически активных соединений [43–46]. Но по настоящее время лиганды CRBN и VHL остаются наиболее успешными и распространёнными соединениями, используемыми в качестве части молекул типа PROTAC [47].

В исследовании 2010 года [48] Ito и коллеги показали, что белок цереблон, который у человека кодируется геном CRBN, является целевым белком для талидомида и его аналогов (Рисунок 2.4). Цереблон вместе с белками DDB1 (сокр. от англ. «damaged DNA binding protein 1») и CRL4 (сокр. от англ. «Cullin-RING ligase 4») образует комплекс, являющийся E3-убиквитинлигазой [49,50], по отношению к которому различные фталимидные производные выступают как его агонисты.

В дальнейших исследованиях была показана наибольшая важность наличия в структуре низкомолекулярных лигандов E3-лигаз фрагмента глутаримида [51,52], что привело к появлению различных структур типа гетеро-PROTAC на основе леналидомида и помалидомида, поскольку они содержат свободную амино-группу, удобную для модификации структуры и введения линкера [53,54]. Подробнее про белки-мишени и молекулы PROTAC, применяющиеся для их разрушения, будет рассказано в разделе 2.2 обзора литературы.

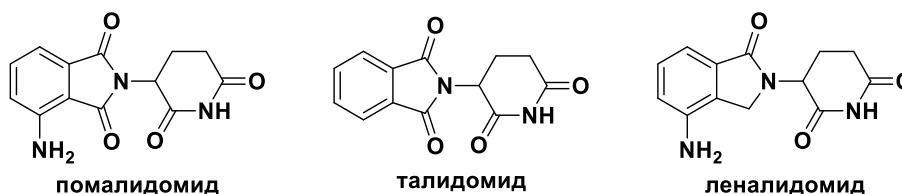


Рисунок 2.4. Структуры талидомида и его аналогов

Другим известным белком E3 убиквитинлигазы, для которого в настоящее время активно создаются низкомолекулярные лиганды, является комплекс белка Cullin2 с белком RING-VHL (сокр. от англ. «von Hippel-Lindau») [55–58]. В ходе первоначального компьютерного моделирования сайта связывания белка VHL был предложен ряд его потенциальных ингибиторов на основе гидроксипролина, из которых наилучшие результаты по связыванию с VHL показала структура **5** (Рисунок 2.5) [40].

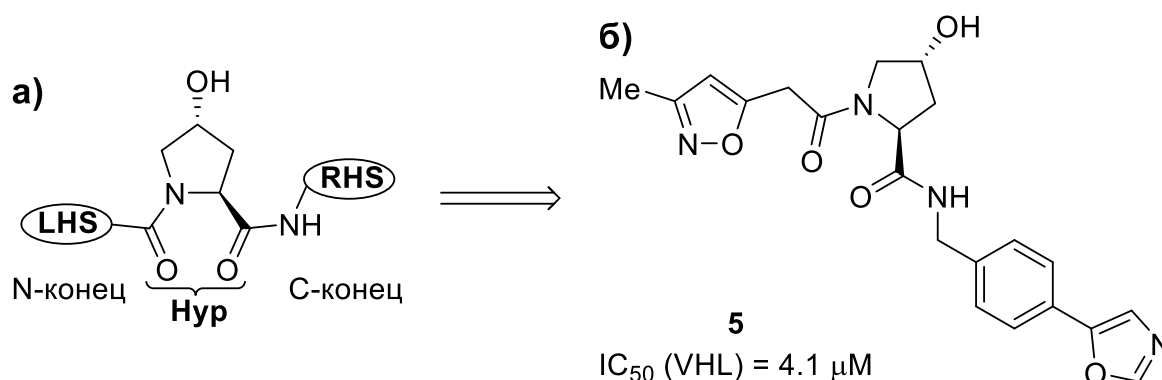


Рисунок 2.5. а) Общая структура ингибитора белка VHL, полученная в результате молекулярного докинга; б) низкомолекулярное соединение **5**, показавшее наилучшие результаты в эксперименте *in vivo*

Учитывая полученные в предыдущих исследованиях результаты, в 2019 году авторами работы [59] с помощью компьютерного моделирования было рассчитано и затем синтезировано соединение **VH032** (Рисунок 2.6, а). Для данного соединения значение $K_d = 185$ нМ превышает аналогичную величину для модельного белка HIF-1 α , что впервые наблюдалось для низкомолекулярного лиганда белка VHL [60]. Дальнейшая модификация соединения-лидера привела к лигандам VHL второго поколения **VH101** и **VH298**, структуры которых показаны на Рисунке 2.6, б).

Позднее на основе этих ингибиторов белка VHL были синтезированы различные соединения типа гомо-PROTAC, которые запускают селективное саморазрушение белка VHL (Рисунок 2.7, а) [61]. Также были получены структуры гетеро-PROTAC, которые способны координироваться как с белком CRBN, так и с VHL, что приводит к запуску выборочного распада цереблona (Рисунок 2.7, б) [62–64].

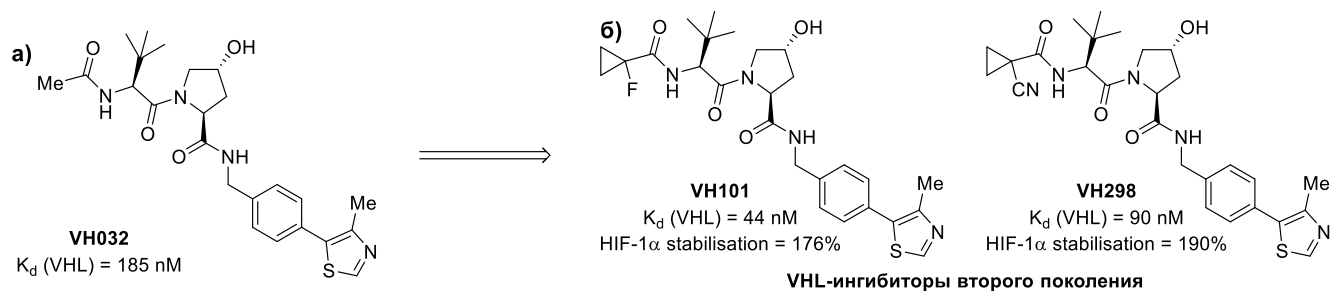


Рисунок 2.6. а) Структура ингибитора первого поколения **VH032**; б) структуры ингибиторов второго поколения **VH101** и **VH298** [59]

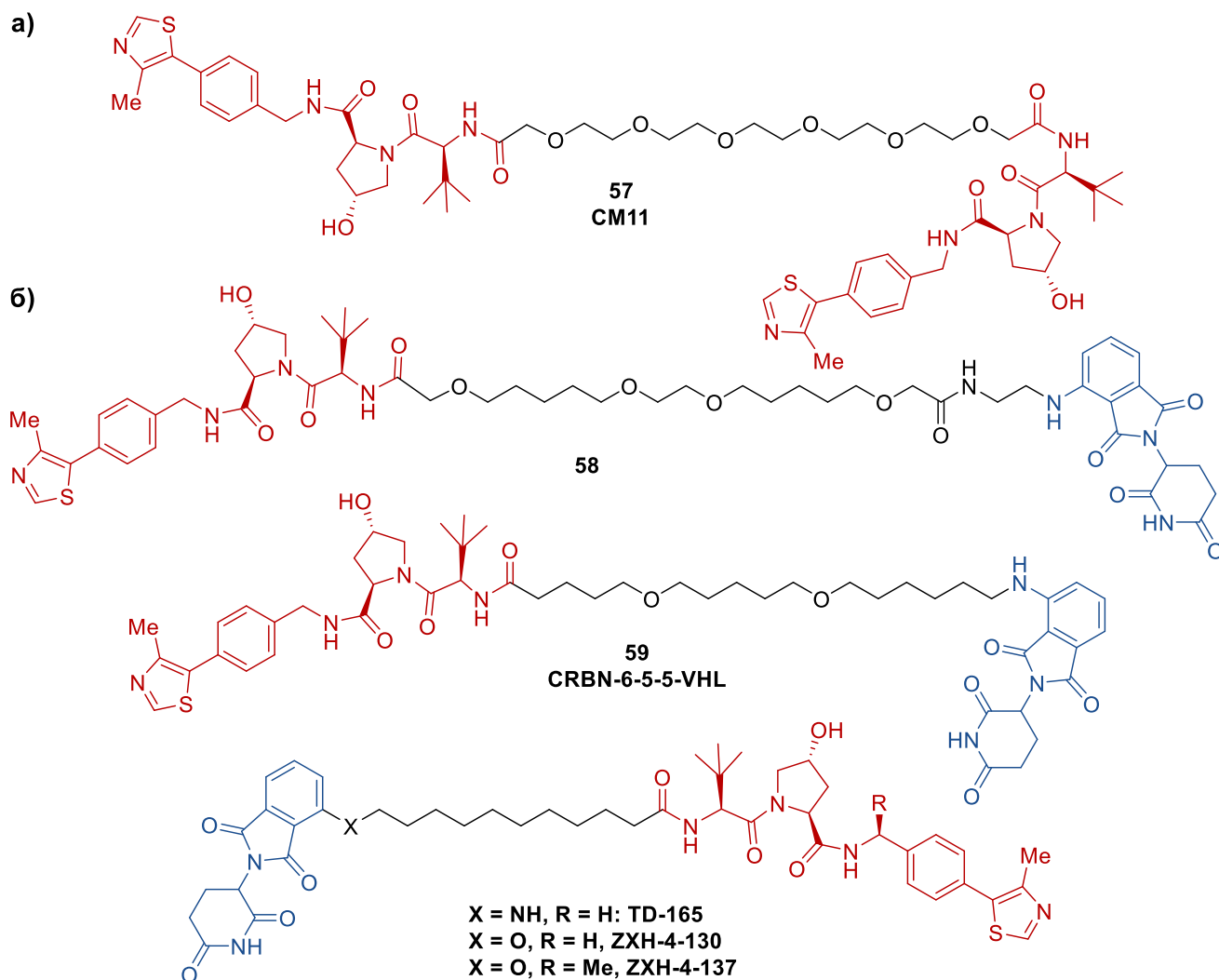


Рисунок 2.7. а) Пример соединения типа гомо-PROTAC на основе лиганда **VH032**; б) примеры соединений типа гетеро-PROTAC на основе помалидомида и различных лигандов белка VHL [62–64]

Поиск новых эффективных лигандов белков VHL и CRBN продолжился и в последующие годы — так, авторы работы [65] в 2023 году предложили ряд новых потенциальных лигандов CRBN на основе метилтиоглутаримида. Полученные значения K_i (CRBN) для соединения-лидера не сильно отличались от аналогичной константы талидомида (3.1 μM и 8.5 μM, соответственно), при этом антипролиферативная активность на клеточных линиях миеломы MOLP-8 и KMS-12-PE для новых соединений была значительно выше (Рисунок 2.8, а). Позднее этой же научной группой в 2025 году [66] была получена серия

соединений на основе α -азидометилглутаримида с помощью медь-катализируемой клик-реакции, причём соединение-лидер проявило большую аффинность к белку CRBN по сравнению с помалидомидом. На основе данных структур перспективна разработка новых молекул PROTAC ввиду их отличного связывания с CRBN и отсутствия цитотоксического эффекта на здоровых клеточных линиях (Рисунок 2.8, б).

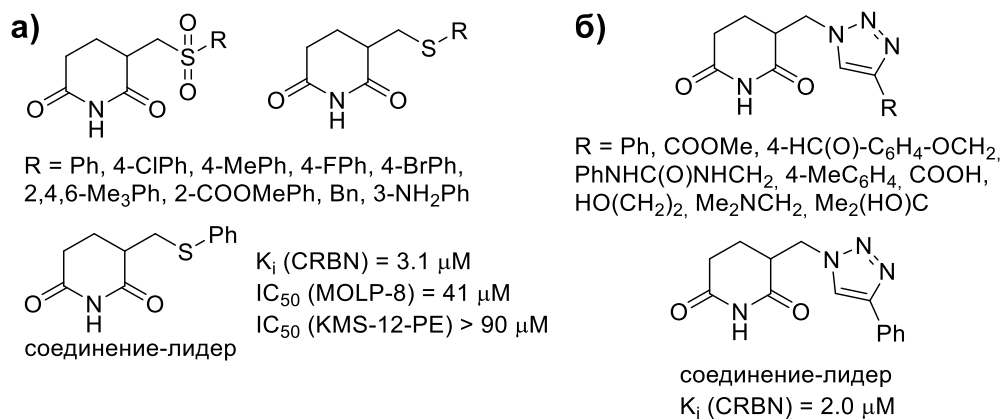


Рисунок 2.8. Примеры новых потенциальных низкомолекулярных лигандов CRBN: а) на основе α -метилтиоглутаримида; б) на основе α -азидометилглутаримида

2.1.3. Перспективы развития подхода PROTAC

Молекулы PROTAC обычно имеют высокую молекулярную массу (часто >1000 г/моль), большое количество доноров и акцепторов водородных связей в структуре, а также высокую липофильность, что затрудняет разработку потенциальных препаратов. Первые молекулы PROTAC, дошедшие до клинических испытаний, демонстрировали плохую проницаемость клеток, низкую растворимость и биодоступность при пероральном приёме, однако многие из этих проблем удалось решить, о чём свидетельствует более 30 молекул PROTAC, которые в настоящее время проходят клинические испытания I-III фаз, и которые описаны в следующем разделе [67]. Из-за удобства и эффективности перорального способа введения препарата структура первой молекулы PROTAC, которую начали использовать в клинической практике (ARV-110, Рисунок 2.9), была оптимизирована путём замены лиганда VHL на лиганд CRBN и введения короткого жёсткого линкера, что сделало её пригодной для перорального приёма [68,69]. Позднее была разработана общая стратегия повышения биодоступности молекул PROTAC при пероральном приёме: снижение молекулярной массы, уменьшение числа доноров и акцепторов водородных связей в структуре соединения, ограничение количества свободно вращающихся связей и увеличение жёсткости линкера [70]. Недавно было также показано, что сочетание классических физико-химических методов анализа (хроматография и методы ЯМР) в сочетании с исследованиями *in silico* могут быть эффективны для прогнозирования биодоступности молекул PROTAC [71].

Анализ пероральной биодоступности, проведённый в 2020 году на грызунах [72] показал, что вероятность достижения подходящих физико-химических свойств у молекул PROTAC на основе лиганда CRBN гораздо выше, чем у основанных на лигандах VHL. Это исследование подтверждается текущей практикой: в клинических испытаниях находятся 19 молекул PROTAC с раскрытой производителями структурой, из которых 15 соединений основаны на различных лигандах CRBN, и лишь 4 молекулы на лигандах VHL [73]. Однако молекулы PROTAC первого поколения на основе фталимида могут приводить к разрушению других белков, не являющихся целевыми [74]. Поэтому разработка новых лигандов CRBN с повышенной селективностью на основе сходных структурных мотивов (дигидроурацилы, аминоклутаримиды, фенилглутаримиды и т.д.) является актуальной задачей [65,66,75–78].

Таким образом, наиболее привлекательными как с синтетической точки зрения, так и с точки зрения биологических свойств низкомолекулярными лигандами убиквитинлигаз являются производные глутаримида — помалидомид и леналидомид, а также сам глутаримид, который удобно для введения линкера модифицировать по α -положению с целью получения молекул различного строения типа гетеро-PROTAC.

2.2. Молекулы PROTAC, прошедшие доклинические исследования

В данном разделе будут рассмотрены примеры молекул PROTAC различных структурных типов с доказанной биологической активностью на различных белках-мишенях, которые в настоящее время проходят клинические испытания.

2.2.1. Молекулы гетеро-PROTAC

В настоящее время 29 молекул PROTAC находятся на различных стадиях клинических испытаний, причём больше половины из них (15 структур) связываются с E3 убиквитинлигазой CRBN, а 4 — с VHL [73]. Все эти молекулы можно классифицировать по мишени, на которую нацелено использование данных низкомолекулярных структур. Из 29 исследуемых молекул структуры 10 соединений не раскрываются публично, про остальные будет рассказано в текущем разделе.

2.2.1.1. Молекулы, связывающиеся с андрогеновым рецептором (AR)

Рак предстательной железы (РПЖ) — второй по распространённости в мире среди мужчин тип рака, ответственный за более чем 400 тыс. смертей ежегодно [79]. Андрогеновый рецептор (AR) — целевой белок, который играет ключевую роль в терапии РПЖ. Чаще всего данный вид рака лечится хирургически или с помощью гормональной терапии с применением таких антагонистов AR, как *аналутамид* или *даролутамид* [80].

Первым соединением типа PROTAC, предложенным для терапии метастатического кастрационно-резистентного рака предстательной железы (КРПРЖ) и вступившим в клинические испытания, в 2019 году стал *бавдегалутамид* (**ARV-110**, Рисунок 2.9) компании Arvinas Inc., а в настоящее время 8 структур типа PROTAC, направленные на AP, находятся в активных клинических испытаниях. **ARV-110** показал высокую эффективность на небольшой выборке пациентов, имеющих мутацию гена T878X/H875Y в AP, а его аналог второго поколения **ARV-766** (*луксдегалутамид*) продемонстрировал увеличенную стабильность и большее количество мутантных генов, на которые он способен воздействовать [81].

Молекула PROTAC **BMS-986365** компании BMS успешно завершает I фазу клинических испытаний. Промежуточные результаты свидетельствуют о том, что у пациентов практически не возникает серьёзных побочных эффектов, а терапия КРПРЖ у пациентов, не прошедших предварительно химиотерапию, протекает успешнее, чем у тех, кто её проходил [82].

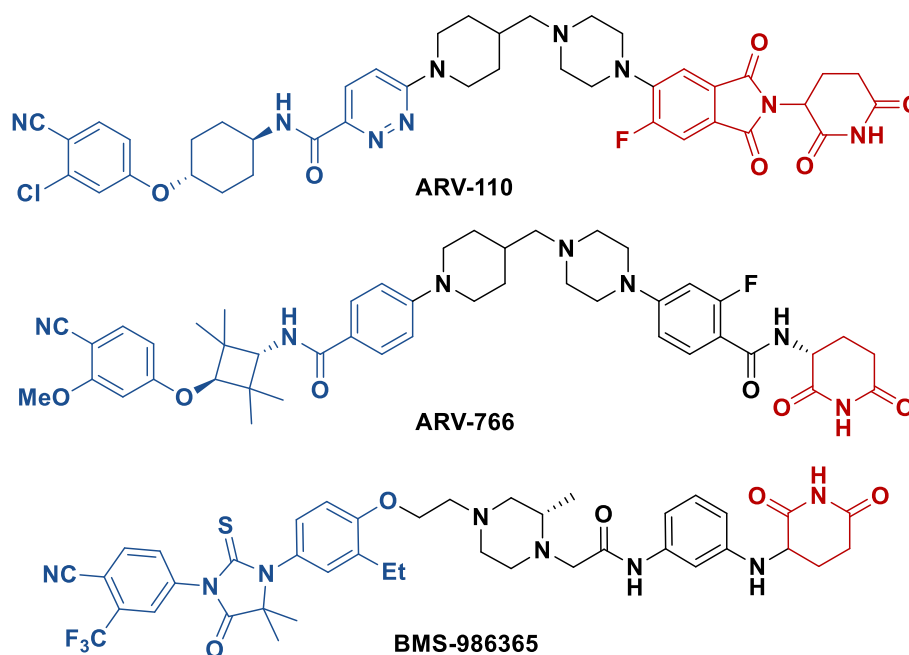


Рисунок 2.9. Структуры молекул PROTAC для терапии рака предстательной железы

2.2.1.2. Молекулы, связывающиеся с рецептором эстрогена (РЭ)

Рак молочной железы (РМЖ) — наиболее часто диагностируемое онкологическое заболевание у женщин в мире. Самые распространённые виды рака молочной железы (порядка 70% всех случаев) — люминальный А-тип и люминальный В-тип — характеризуются гиперэкспрессией РЭ, что делает эту мишень крайне важной для диагностики и терапии данного вида рака [83].

РЭ — транскрипционный фактор, регулирующий гены, отвечающие за клеточный цикл, пролиферацию и апоптоз, и активирующийся связыванием с эстрогеном. Основная цель

терапии рака молочной железы заключается в снижении или подавлении активности рецептора эстрогена с помощью селективных модуляторов РЭ (*тамоксифен*, Рисунок 2.10, а) или селективных разрушителей (*фульвестрант*, Рисунок 2.10, б) [84,85]. Однако спустя 6 месяцев после лечения восстанавливается более 50% РЭ, что приводит к рецидиву болезни и развитию приобретённой устойчивости.

Молекулы PROTAC способны полностью и селективно разрушать целевой белок РЭ, избегая при этом агонистического эффекта [86,87]. На данный момент 3 структуры, нацеленные на белок РЭ, находятся или находились в клинических испытаниях — **ARV-471** (*вепдегестрант*) от Arvinas/Pfizer (Рисунок 2.10, в), **AC682** от Accutar Biotech (точная структура неизвестна, после успешной I фазы клинических испытаний дальнейшие были отменены [88]) и **HRS-1358** от компании Jiangsu HengRui, структура которого также не раскрывается. **ARV-471** в настоящее время проходит III стадию клинических испытаний для терапии ER⁺HER2⁻ метастатического РМЖ; он продемонстрировал полную деградацию белка РЭ на различных клеточных линиях рака молочной железы и превосходящую фульвестрант эффективность в замедлении роста опухолей (англ. TGI» — tumor growth inhibition) в сравнении с фульвестрантом [89].

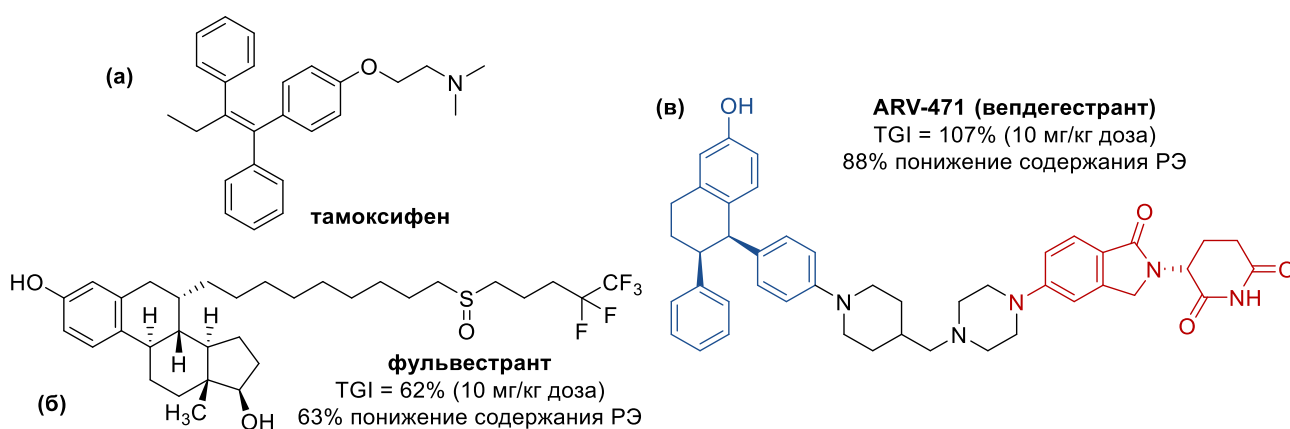


Рисунок 2.10. Низкомолекулярные ингибиторы рецептора эстрогена: (а) *тамоксифен* и (б) *фульвестрант*, используемые в клинической практике; (в) *вепдегестрант*, находящийся в III фазе клинических испытаний для терапии рака молочной железы [89]

В терапии молекулам PROTAC придётся конкурировать с уже зарекомендовавшими себя соединениями (*тамоксифен* и *фульвестрант*), однако **ARV-471** и **HRS-1358** обладают рядом преимуществ, подтверждённых в клинических испытаниях — у них более высокая эффективность, меньшее количество побочных эффектов и возможность проведения терапии на более широком спектре мутировавших клеток [90].

2.2.1.3. Молекулы, связывающиеся с тирозинкиназой Брутона (ТКБ)

Хронический лимфоцитарный лейкоз (ХЛЛ) — наиболее часто диагностируемый вид рака крови, который на молекулярном уровне характеризуется образованием злокачественных моноклональных β -клеток, управляемыми β -клеточным рецептором (БКР) [91]. Блокировка тирозинкиназы Брутона (ТКБ), играющей ключевую роль в сигнальном пути БКР, с помощью низкомолекулярных ингибиторов произвело серьёзный сдвиг в лечении ХЛЛ, и в настоящее время стандарт лечения не включает в себя химиотерапию. Однако в результате точечных мутаций, реактивирующих тирозинкиназу или снижающих эффективность ингибитора, в клетках развивалась резистентность к ингибиторам как ковалентного, так и нековалентного типов [92].

Учитывая известную роль ТКБ в развитии опухолевых заболеваний, её важную функцию в сигнальном пути и появление резистентности к существующим методам лечения, ТКБ — идеальный белок-мишень для разработки новых лекарств PROTAC, и в настоящее время шесть молекул проходят клинические испытания для лечения ХЛЛ. Молекулы PROTAC, вызывающие деградацию целевого белка, могут селективно разрушать ТКБ независимо от мутаций, возникающих в результате предыдущего лечения необратимыми или обратимыми ингибиторами [93]. Компания Nurix Therapeutics проводит I фазу клинических испытаний для двух молекул PROTAC: **NX-2127** (*зелебрудомид*, Рисунок 2.11), способный селективно связываться с ТКБ и Ikaros (другое название — IKZF1, ещё один транскрипционный фактор, ответственный за образование β -клеток); и **NX-5948** — аналог второго поколения, специфично связывающийся с ТКБ [94,95].

Помимо вышеописанных соединений, полученных компанией Nurix Therapeutics, известна структура ещё одной молекулы PROTAC, направленной на связывание ТКБ — это вещество **BGB-16673** (Рисунок 2.11), разработанное компанией BeiGene и успешно прошедшее I фазу клинических испытаний [96].

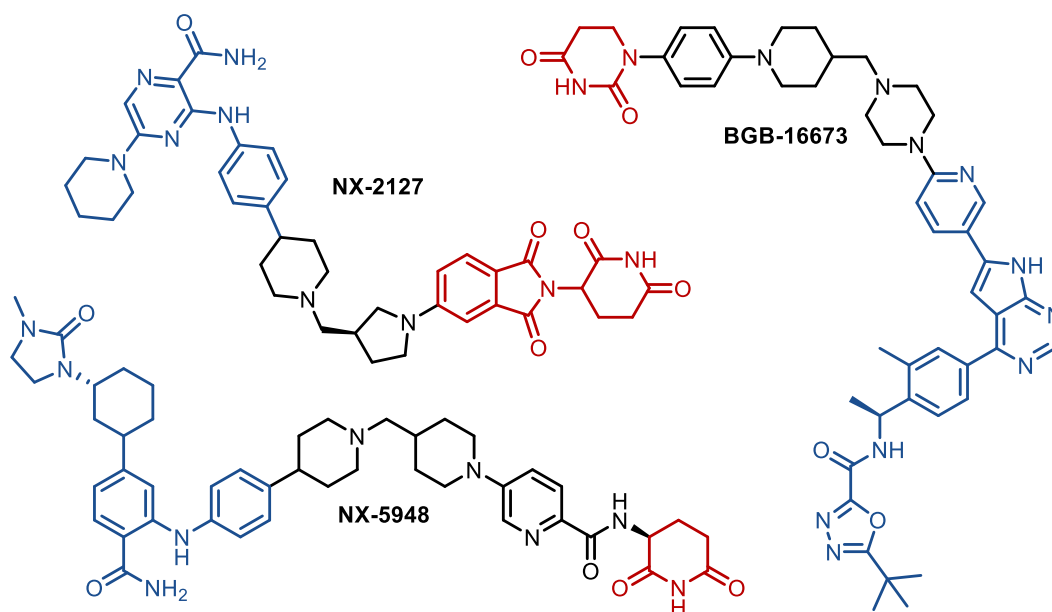


Рисунок 2.11. Известные структуры молекул PROTAC, направленных на связывание тирозинкиназы Брутона

В доклинических исследованиях соединение **NX-2127** вызывало остановку пролиферации в злокачественных клетках. В клинических исследованиях пациенты с ХЛЛ демонстрировали в среднем 80% снижение уровней ТКБ по сравнению с исходными показателями, независимо от типа мутаций в их клетках [94]. **NX-5948**, препарат второго поколения того же структурного типа, полностью разрушал мутированные версии ТКБ в клеточной линии TMD8, что приводило к более сильному ингибированию роста опухоли по сравнению с **NX-2127** [97].

2.2.1.4. Молекулы PROTAC, используемые в терапии диффузной крупноклеточной β -клеточной лимфомы (ДКБКЛ)

Т-клеточная лимфома (ТКЛ) — это редкое и труднодиагностируемое заболевание крови, при котором Т-лимфоциты не подвергаются апоптозу из-за гиперэкспрессии антиапоптотических белков семейства Bcl-2. Низкомолекулярные препараты, такие как **АВТ263** (*навитоклакс*, Рисунок 2.12), не прошли клинические испытания из-за развития тромбоцитопении, серьёзно ограничивающей допустимую вводимую дозу [98]. Учёные из Университета Флориды предложили в 2019 году использовать молекулу PROTAC **DT2216** (Рисунок 2.12) на основе лиганда VHL, которая могла бы селективно разрушать Т-лимфоциты, вызывающие ДКБКЛ, без значительного увеличения общей тромбцитарной токсичности [99].

Использование **DT2216** в экспериментах на различных опухолевых клетках привело к разрушению ДКБКЛ, но не в тромбоцитах, экспрессирующих малые количества белка VHL. **DT2216** также показал высокую эффективность против ксенотрансплантатов ТКЛ у мышей, не

вызывая при этом значительной тромбоцитопении (в отличие от **АВТ263**) [100]. В этом же исследовании было показано, что опухолевые клетки развивают гораздо меньшую резистентность к **DT2216**, в отличие от других химиотерапевтических агентов.

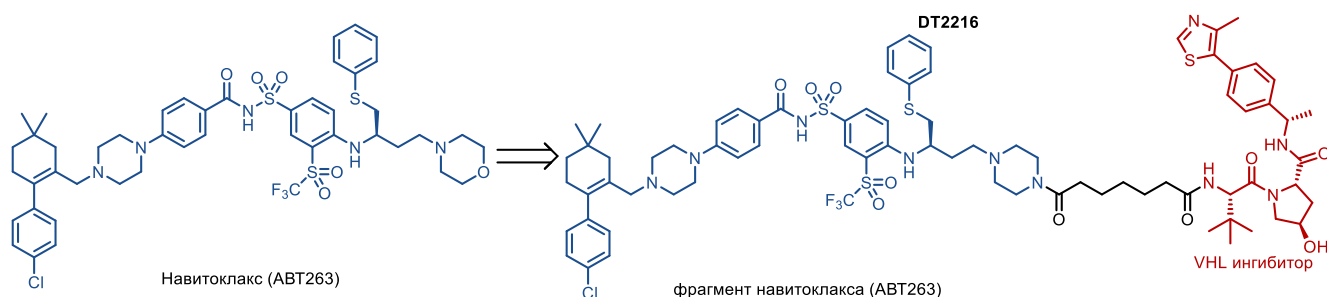


Рисунок 2.12. Структуры **DT2216** (справа) и его предшественника — *навитоклакса* (**АВТ263**, слева)

В настоящее время соединение **DT2216** находится в I фазе клинических испытаний для пациентов с рецидивными злокачественными новообразованиями в качестве монопрепарата или в комбинации с химиотерапией; он также получил статус орфанного препарата для лечения ТКЛ. Таким образом, **DT2216** может стать первым в своём классе клинически одобренным препаратом PROTAC [101].

2.2.1.5. Молекулы PROTAC для терапии β -клеточной лимфомы 6 (БКЛ6)

Диффузная крупноклеточная β -клеточная лимфома (ДКБКЛ) — наиболее распространенный тип лимфомы, возникающий в результате злокачественной пролиферации β -клеток и составляющий 25-30% всех случаев неходжкинской лимфомы [102]. В ходе этого заболевания у 20–40% пациентов наблюдается мутация в гене БКЛ6, который является главным фактором транскрипции, регулирующим клеточный цикл, апоптоз и реакцию на повреждение ДНК, а также ключевым онкогеном, вызывающим β -клеточную лимфому [103]. Подобные факторы транскрипции являются сложными мишенями для лекарственных препаратов; в последние годы были разработаны мощные низкомолекулярные ингибиторы БКЛ6, однако для эффективного противоопролиферативного действия необходимо полное разрушение БКЛ6 [104].

В настоящее время два пероральных селективных препарата PROTAC, способных селективно связываться с БКЛ6, находятся в фазе I клинических испытаний. Компания Arvinas недавно раскрыла структуру **ARV-393** (Рисунок 2.13) — соединения, представляющего собой PROTAC-молекулу на основе леналидомида, который приводит к снижению концентрации БКЛ6 на 90% у мышей через 4 часа после приёма и обеспечивает устойчивое подавление БКЛ6 в течение более 24 часов при однократной пероральной дозе [105]. Соединение **BMS-986458** исследуется в фазе I клинических испытаний для терапии БКЛ6 в качестве монопрепарата и в комбинации с моноклональным антителом ритуксимабом [106].

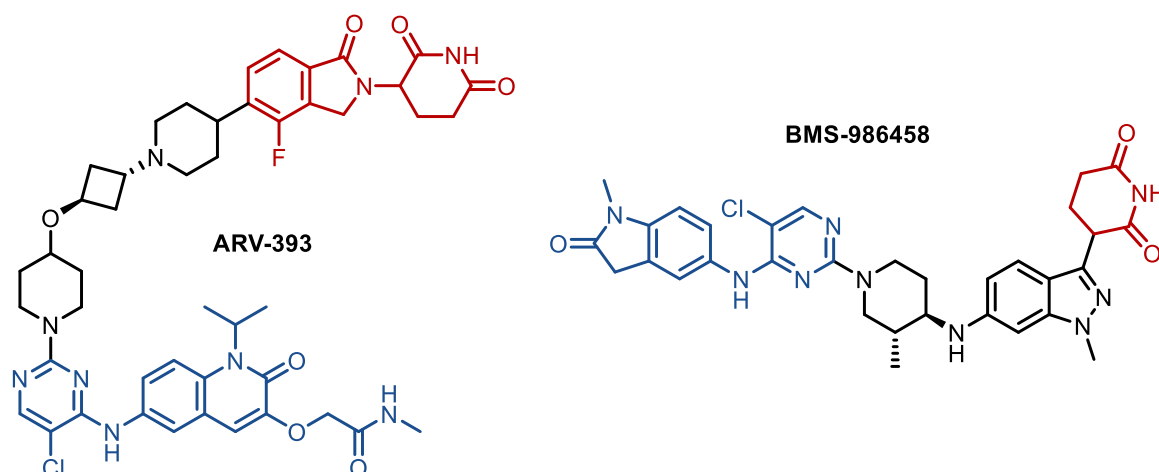


Рисунок 2.13. Структуры молекул PROTAC, направленные на терапию β -клеточной лимфомы 6

2.2.1.6. Ингибиторы интерлейкин-1-рецептор-ассоциированной киназы 4 (IRAK4)

Интерлейкин-1-рецептор-ассоциированная киназа 4 (IRAK4) — сериновая/треониновая киназа, которая является основным медиатором сигнальных путей TLR и IL-1R. В последнее время она стала важной терапевтической мишенью для лечения различных воспалительных заболеваний, поскольку помимо своей киназной функции, IRAK4 наряду с белком Myd88 образует сигнальный комплекс миддосому, который является важной частью врождённого иммунитета [107]. Известно, что гиперэкспрессия белка Myd88 связана с различными видами рака, в том числе с 35% всех случаев ДКБКЛ и 80% первичных внеузловых лимфом. Было предложено большое количество структур потенциальных ингибиторов IRAK4, нацеленных на сайт связывания с АТФ, но в настоящее время только несколько из них — в том числе **BAU1834845** (*забедосертиб*) (Рисунок 2.14) — дошли до I фазы клинических испытаний [108].

Компания Kumer Therapeutics в 2022 г. разработала соединение **КТ-413** (Рисунок 2.14), высокоэффективную и селективную молекулу PROTAC, направленную на протеолиз IRAK4. **КТ-413** успешно прошёл клинические испытания I фазы для терапии различных видов лимфомы. Однако несмотря на достижение ожидаемых уровней разрушения белка IRAK4 и отсутствие каких-либо побочных процессов, ограничивающих дозу, в ноябре 2023 года его дальнейшее исследование было остановлено [74].

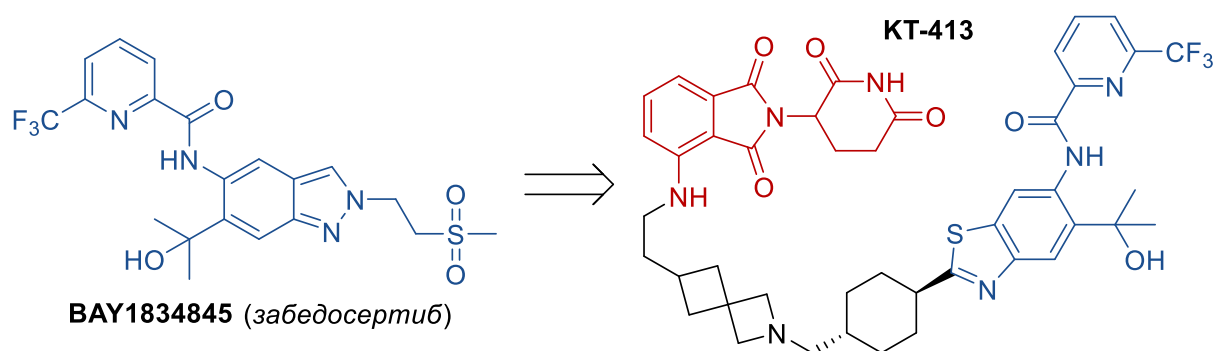


Рисунок 2.14. Структуры забедосертиба (слева) и **KT-413**, молекулы PROTAC на его основе

2.2.1.7. Ингибиторы бромодомен-содержащего белка 9 (BRD9)

Синовиальная саркома — редкая и крайне агрессивная разновидность рака, которая ежегодно поражает около 1000 человек во всём мире, а основным методом лечения является хирургическое вмешательство в сочетании с лучевой или химиотерапией для снижения вероятности развития рецидива [109]. Синовиальная саркома и SMARCB1-дефицитные опухоли сильно зависят от белка BRD9, компонента неканонического комплекса SWI/SNF (АТФ-зависимый комплекс, ответственный за регуляцию генов). Был проведён ряд исследований, направленных на поиск низкомолекулярных ингибиторов BRD9, однако их активность оказывалась недостаточной для устранения опухоли [110].

Первые разработанные молекулы PROTAC, нацеленные на BRD9, в настоящее время дошли до клинических испытаний. Так, соединение **FHD-609** (Рисунок 2.15), полученное Foghorn Therapeutics и избирательно воздействующее на гомологичный бромодомен BRD7, тестировалось для лечения прогрессирующей и метастатической синовиальной саркомы [111]. Но в апреле 2023 года Foghorn приостановила набор участников из-за возникновения серьёзных побочных эффектов [112].

Компания C4 Therapeutics также разработала пероральный препарат PROTAC **CFT8634** (Рисунок 2.15) для пациентов с синовиальной саркомой и опухолями с нулевым содержанием SMARCB1 [113]. В ходе биологического тестирования была зарегистрирована регрессия опухоли в ксенотрансплантатах, полученных от пациентов, без наблюдаемого повторного роста после 89 дней лечения и 51 дня наблюдения. Но несмотря на высокий уровень протеолиза BRD9 на I стадии клинических испытаний, дальнейшие исследования были прекращены из-за недостаточной эффективности у пациентов, прошедших интенсивную предварительную терапию [114].

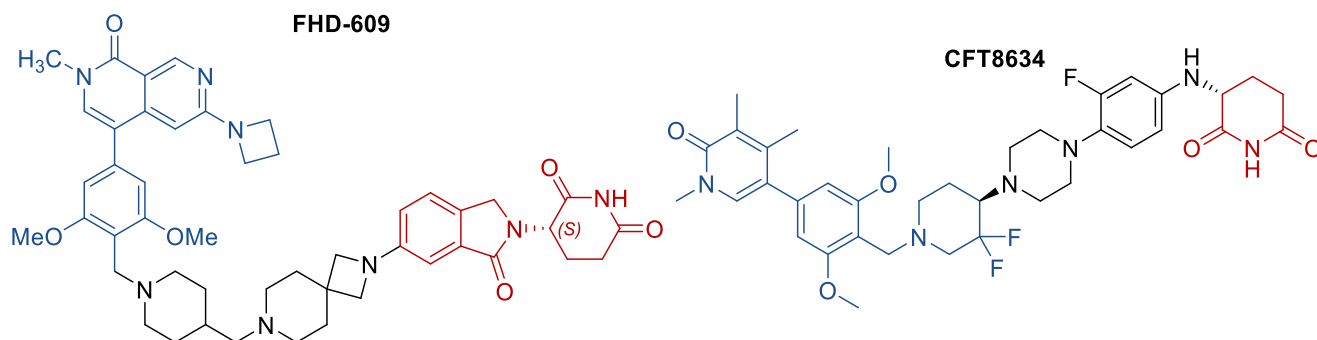


Рисунок 2.15. Структуры молекул PROTAC, направленных на протеолиз bromодемен-содержащего белка 9

2.2.1.8. Молекулы, связывающиеся с сигнальным белком и активатором транскрипции 3 (STAT3)

Сигнальный белок и активатор транскрипции 3 (STAT3) — это фактор транскрипции, участвующий практически во всех механизмах развития рака (пролиферация, метастазирование, ангиогенез, иммуносупрессия, воспаление опухоли, перепрограммирование метаболизма, лекарственная устойчивость и др). STAT3 считается труднодоступной мишенью для лекарственного воздействия из-за крайне высокого заряда сайта связывания фосфотирозина в его SH2-домене, однако молекулы PROTAC способны связываться с любыми участками целевого белка [115].

КТ-333 (Рисунок 2.16) — первая в своем классе молекула PROTAC, запускающая выборочный протеолиз белка STAT3 — была разработана компанией Kumer Therapeutics. **КТ-333** в настоящее время проходит I фазу клинических испытаний для лечения лимфомы, а также получил статус орфанного препарата для лечения кожной и периферической Т-клеточной лимфомы (CTCL и PTCL) [116].

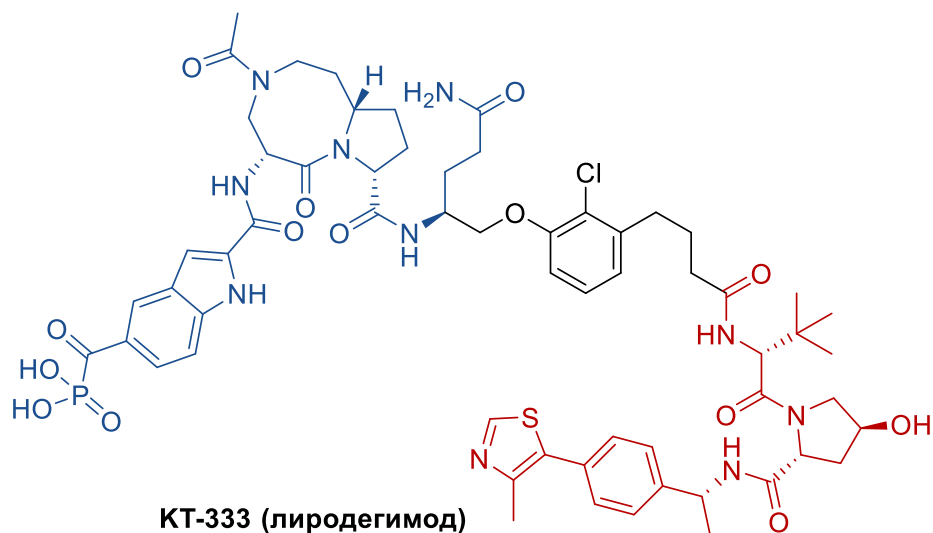


Рисунок 2.16. Структура **КТ-333** (*лиродегимод*), первый в своём классе селективный ингибитор STAT3

2.2.1.9. Молекулы, связывающиеся с протоонкогеном MDM2

Белок p53, известный как «страж генома», является супрессором опухолей, регулирующим репарацию ДНК, клеточный цикл, апоптоз, ангиогенез и старение клеток, что придаёт ему важную роль в защите организма от рака. Ген *TP53*, кодирующий белок p53, подвергается мутациям примерно в 50% всех злокачественных новообразований у человека, включая такие распространённые виды, как рак груди, толстой кишки, лёгких, печени, предстательной железы, мочевого пузыря и кожи [117]. Известно, что p53 маркируется для протеолиза белком MDM2 (англ. «murine double minute 2»), являющимся E3-убиквитинлигазой, что делает MDM2 ключевой мишенью для лечения рака.

Низкомолекулярные ингибиторы, которые усиливают экспрессию p53, конкурентно связываясь с MDM2, ограничены механизмом отрицательной обратной связи, который увеличивает содержание MDM2 при усилении экспрессии p53 [118]. В клинических испытаниях было исследовано более десяти высокоактивных ингибиторов MDM2-p53, но применение этих препаратов ограничивается быстрым развитием толерантности к лечению и гематологической токсичностью, такой как тромбоцитопения и нейтропения [119].

Компания Kymeta Therapeutics разработала MDM2-направленную PROTAC-молекулу **КТ-253** (*селдегамадлин*, Рисунок 2.17), который, как было показано в доклинических исследованиях, преодолевает механизм обратной связи MDM2 и в настоящее время проходит I фазу клинических испытаний для лечения прогрессирующих высокодифференцированных миелоидных злокачественных новообразований, острого миелоидного лейкоза (ОМЛ), острого лимфобластного лейкоза, лимфом и солидных опухолей [120]. В июне 2022 года **КТ-253** получил статус орфанного препарата для лечения ОМЛ. Селективное связывание MDM2 с

помощью стратегии PROTAC иллюстрирует возможность использования одной E3-убиквитинлигазы для деградации другой.

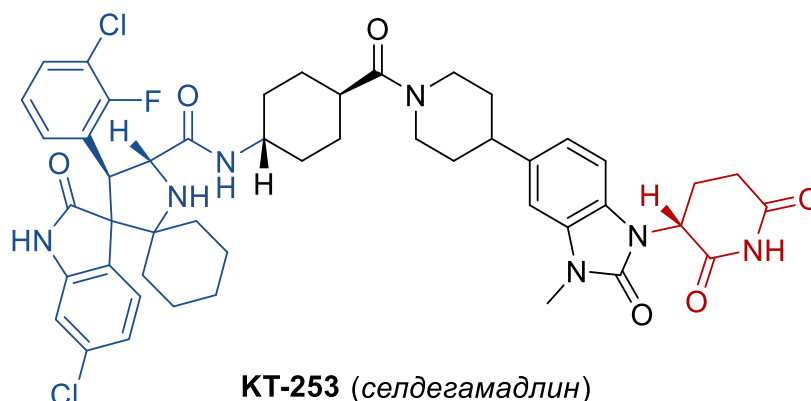


Рисунок 2.17. KT-253, молекула PROTAC, способная запускать выборочный протеолиз белка MDM2

2.2.1.10. Молекулы PROTAC, селективно связывающиеся с белком SMARCA2

SMARCA2 и SMARCA4 — АТФ-зависимые хеликазы, являющиеся компонентами белкового комплекса SWI/SNF или BAF (у млекопитающих), который играет роль в реструктуризации хроматина и, следовательно, регулирует экспрессию генов. Исследования показали, что при ~20% онкологических заболеваний у человека клетки имеют мутацию в одной из субъединиц комплекса BAF, причём мутации с потерей функции SMARCA4 регулярно наблюдались у пациентов с немелкоклеточным раком лёгкого (НМРЛ) [121]. Белки SMARCA имеют высокую степень гомологии последовательности, включая домен АТФазы (93% сходства) и консервативный бромодомен (96% сходства), который взаимодействует с ацетилированным хроматином.

Ингибиторы домена АТФазы не могут различить эти два белка между собой, что приводит к проблеме низкой селективности и, следовательно, к повышению токсичности, ограничивающей вводимую дозу, что затрудняет изучение этих ингибиторов *in vivo* [122]. Селективный протеолиз SMARCA2 является перспективной терапевтической концепцией для воздействия на комплекс BAF при лечении рака. Молекулы PROTAC на основе лиганда VHL (Рисунок 2.19) были впервые разработаны в 2019 году; по результатам *in vivo* тестирования они продемонстрировали уязвимость рака к разрушению комплекса BAF [123]. Структуры позднее были оптимизированы для повышения селективности по отношению к SMARCA2 по сравнению с SMARCA4 [124]. Выборочный протеолиз белка SMARCA2 в клетках с мутацией SMARCA4 был подтверждён в качестве перспективной стратегии несколькими другими группами [125–127].

Описана ещё одна молекула PROTAC, нацеленная на протеолиз SMARCA2, которая проходит I стадию клинических испытаний для лечения НМРЛ с мутацией SMARCA4 — препарат **PRT3789** (Рисунок 2.18) на основе лиганда VHL от Prelude Therapeutics [128].

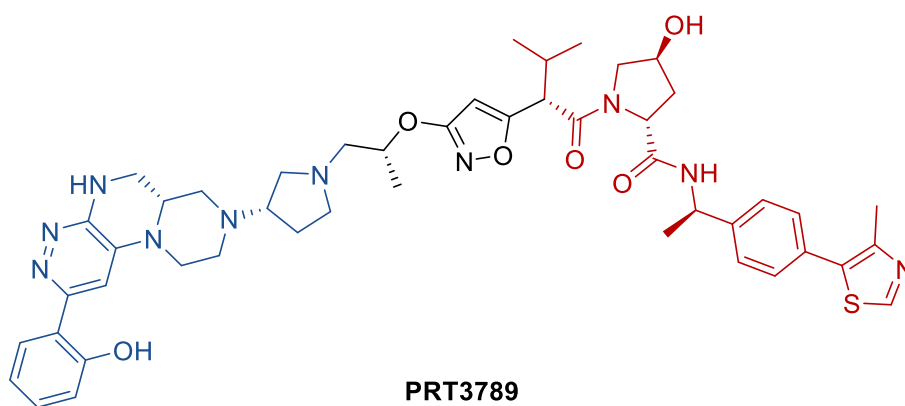


Рисунок 2.18. Молекула **PRT3789**, вызывающая селективную деградацию белка SMARCA2

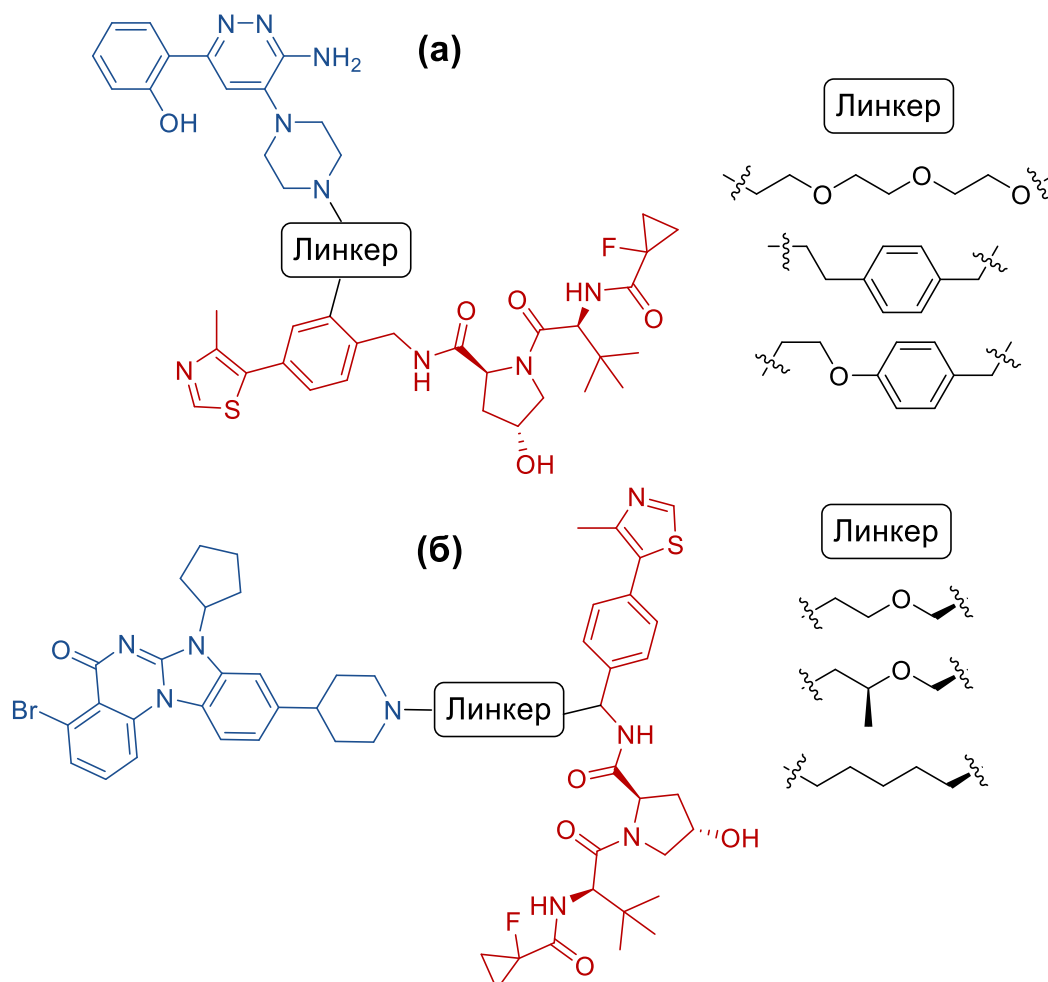


Рисунок 2.19. Молекулы PROTAC, направленные на селективный протеолиз белка SMARCA2: а) 1-го поколения, б) 2-го поколения

2.2.1.11. Молекулы PROTAC, направленные на вирус саркомы крысы Кирстена (KRAS)

Белок KRAS — «молекулярный переключатель», который контролирует пролиферацию, миграцию и регуляцию генов. KRAS подвергается мутациям во многих видах рака, особенно в аденокарциноме поджелудочной железы, НМРЛ и раке предстательной железы; при этом мутации в KRAS приводят к неконтролируемому росту злокачественной опухоли [129]. Только в 2021 году препарат *соторасиб*, первый в своём классе ингибитор KRAS, был одобрен для лечения НМРЛ, а в 2022 году — *адаграсиб*, при применении которого у 58% пациентов наблюдалось уменьшение опухоли [130]. Но из-за стремительного бесконтрольного деления клеток, в которых нарушена регуляция KRAS, у пациентов быстро возникает резистентность к принимаемым препаратам [131,132].

В 2023 году компания Astellas Pharma представила молекулу PROTAC **ASP3082** (*сетидеграсиб*, Рисунок 2.20) — вводимый внутривенно препарат, селективно разрушающий KRAS, который использует для этого E3 убиквитинлигазу VHL. **ASP3082** в настоящее время проходит I фазу клинических испытаний для лечения аденокарциномы поджелудочной железы [133]. В 2024 году группой под руководством Попова была продемонстрирована высокоэффективная и селективная деградация белка KRAS с использованием молекулы PROTAC **ACB13** (Рисунок 2.20), которая вызывала значительную регрессию опухоли в *in vivo* исследованиях на моделях мышей [134].

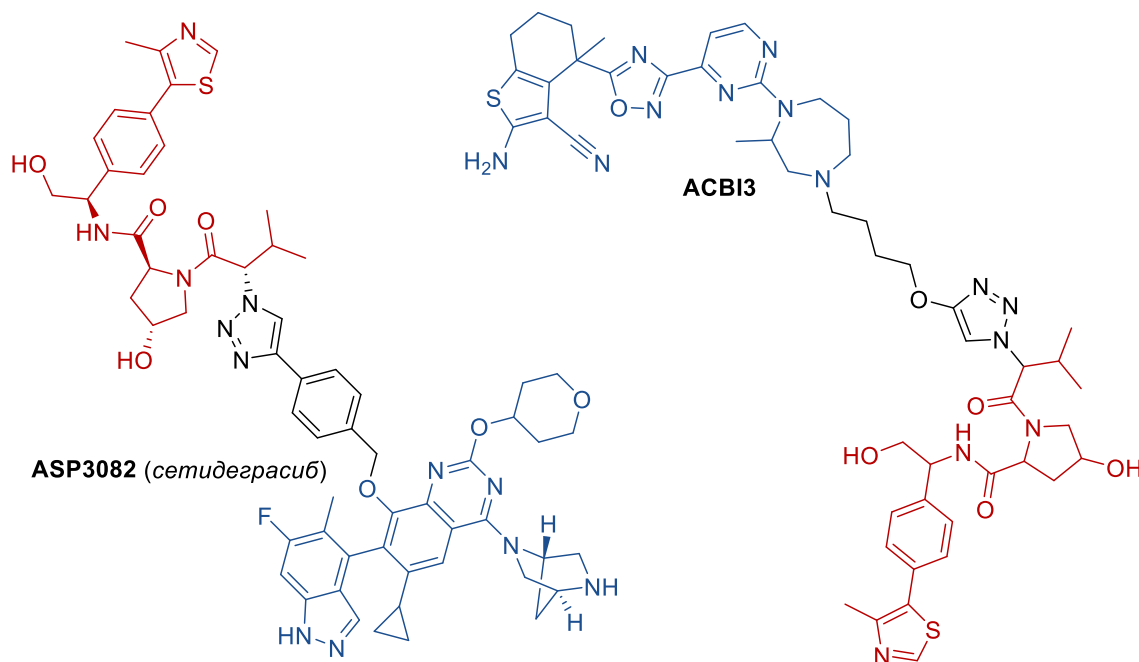


Рисунок 2.20. Структуры молекул PROTAC, направленных на выборочный протеолиз белка KRAS

2.2.1.12. Молекулы PROTAC, направленные на серин/треониновую протеинкиназу (BRAF)

Сигнальный путь RAS-RAF-MEK-ERK является ключевым каскадом для поддержания клеточного гомеостаза. Мутировавшие варианты BRAF класса 1, такие как V600E и V600K, гиперэкспрессируют сигнальный путь, приводя к неконтролируемой пролиферации клеток. Мутации BRAF наблюдались в 8% случаев рака, включая меланому (60%), колоректальный рак (10%), НМРЛ (10%) и волосатоклеточный лейкоз (100%) [135]. Ингибиторы BRAF, такие как *вемурафениб*, увеличивают выживаемость пациентов с гиперактивными мутациями BRAF; однако после нескольких лет клинических испытаний был сделан вывод, что лечение ингибиторами мутантных вариаций BRAF может вызывать резистентность к терапии и парадоксальную активацию RAF [136].

Применение подхода PROTAC может позволить предотвратить активацию RAF. На основе лиганда CRBN компанией C4 Therapeutics получили соединение **CFT1946** (*тагарафдег*, Рисунок 2.21) — пероральный препарат, нацеленный на мутантный вариант BRAF V600E [137]. В настоящий момент соединение находится на стадии I/II клинических испытаний для лечения пациентов с раком, вызванным BRAF-V600 и резистентным к другим низкомолекулярным ингибиторам [138].

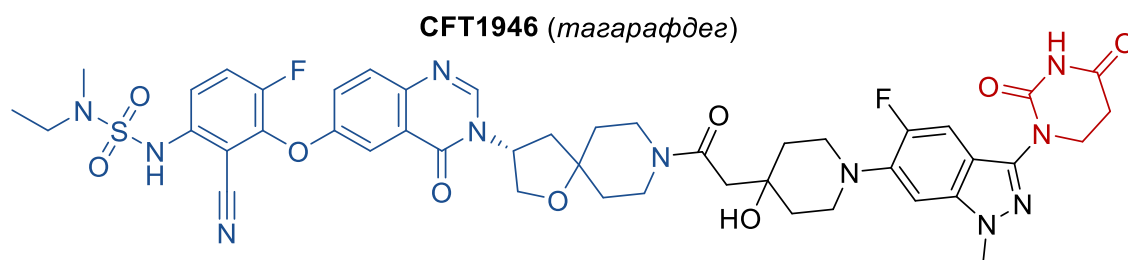


Рисунок 2.21. Структура **CFT1946** (*тагарафдега*) — первой молекулы PROTAC в своём классе

2.2.2. Молекулы гомо-PROTAC

Некоторые E3 убиквитинлигазы сами по себе могут быть мишенями для лечения ряда онкологических заболеваний [139,140]; например, ингибирование белка VHL низкомолекулярными лигандами ещё в 2009 году было описано для терапии анемии, вызванной хронической болезнью почек. Но возникшая проблема низкой селективностью ингибиторов VHL заставила исследователей переключиться на селективный протеолиз белка VHL с помощью подхода PROTAC [141–143]. В 2017 году группой Ciulli [144] был предложен концепт «гомо-PROTAC», направленный на полное разрушение белка VHL в клетках.

«Гомо-PROTAC» — это соединения PROTAC, целенаправленно разработанные для увеличения биологической активности путём димеризации E3-убиквитинлигазы. После димеризации каждая из молекул лигазы убиквитинирует другую, что вызывает деградацию их обеих в протеасоме («суицидный механизм»). На примере известных ингибиторов VHL, таких

как **VH032** и **VH298** (Рисунок 2.6), были определены фрагменты их структуры, не участвующие в связывании с VHL; по которым, следовательно, эти молекулы можно модифицировать линкером без существенного ухудшения связывания с целевым белком [145,146].

Далее были синтезированы три различных типа молекул гомо-PROTAC на основе ингибитора VHL (Рисунок 2.22): симметричные молекулы, соединённые через ацетильные группы; симметричные молекулы, в которых два одинаковых фрагмента соединены через ароматические фрагменты; и несимметричные структуры, в которых линкер соединяет ацетильную группу одной молекулы с ароматическим фрагментом другой. В качестве линкеров были выбраны длинноцепочечные линейные фрагменты, состоящие из трёх, четырёх или пяти остатков этиленгликоля, для оптимизации пространственной ориентации и гибкости, необходимых для эффективной димеризации лигазы и последующего убиквитинирования. Дальнейшие биологические исследования показали, что молекулы гомо-PROTAC с сочленением между ацетильными группами (Рисунок 2.22, **тип А**) продемонстрировали наибольшую эффективность в протеолизе белка-мишени среди всех протестированных вариантов [147].

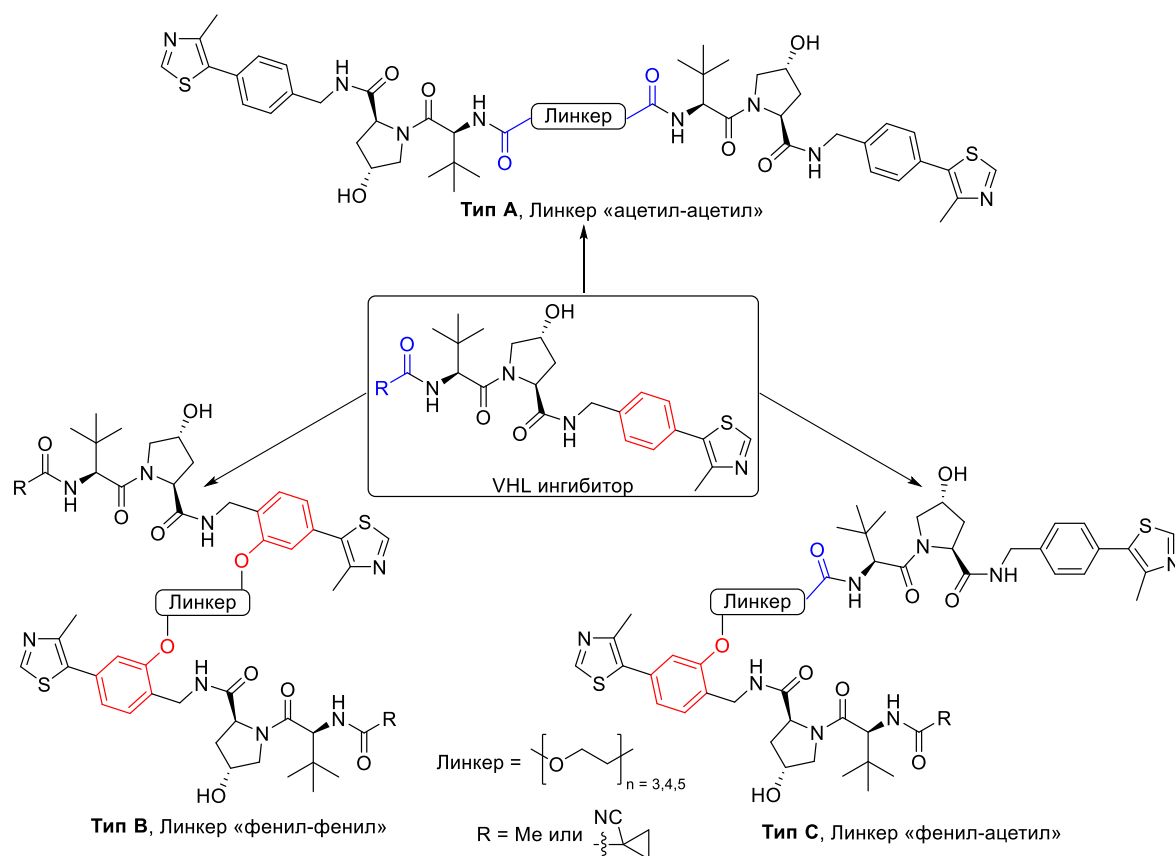
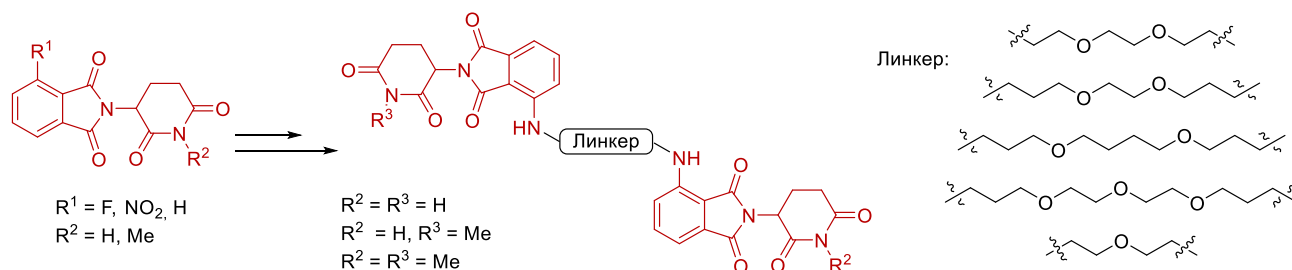


Рисунок 2.22. Примеры первых молекул гомо-PROTAC, полученных группой Ciulli [144]

Развивая подход гомо-PROTAC, Steinbach и коллеги в 2018 году [148] опубликовали получение серии соединений на основе известных к тому времени лигандов E3-убиквитинлигазы cereblon (Рисунок 2.23). Известно, что иммуномодуляторы (вещества,

регулирующие активность иммунной системы) на основе фталимида, такие как талидомид, помалидомид и леналидомид, способны связываться с белком CRBN — одним из активных лигандов E3-убиквитинлигазы [48,149,150]. На основе помалидомида были получены симметричные молекулы, в которых фрагменты помалидомида были соединены линкером через аминогруппу:



В ходе дальнейшего биологического исследования полученных структур была показана селективность деградации белка CRBN в клетках миеломы MM1S при наномолярных концентрациях, тогда как свободные помалидомид и талидомид не приводили к снижению содержания CRBN даже через 16 часов после их введения в клетку. Также был сделан вывод, что линкера в 5-6 атомов недостаточно для значительного повышения активности соединений, а линкер длиной в 10-12 атомов оптимален.

Позднее группа Ciulli продолжила [151] развитие концепции «гомо-PROTAC», соединив в молекуле лиганды двух различных E3-убиквитинлигаз — CRBN и VHL — для взаимного убиквитинирования и последующего их разрушения [147]. В цитируемой работе описаны 3 серии таких соединений, отличающиеся между собой местом присоединения линкера к лиганду VHL — либо через ацетильный конец, либо через фенильный фрагмент молекулы, либо через тиоэфирный мостик, присоединённый к остатку лейцина. К помалидомиду же линкер присоединяли всегда через аминогруппу (Рисунок 2.24).

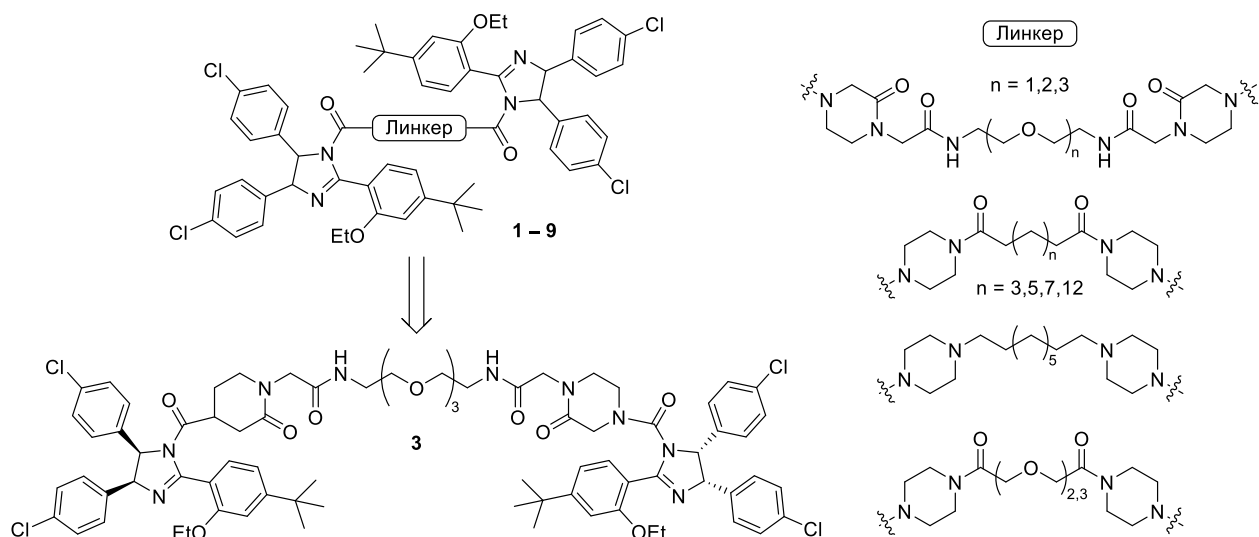


Рисунок 2.25. Структура соединений типа гомо-PROTAC на основе нутлина-3

Таким образом, можно сделать следующие выводы: 1) подход PROTAC является эффективным методом для направленной протеасомной деградации различных типов целевых белков; 2) перспективными для связывания с молекулами PROTAC E3-убиквитинлигазами, лиганды которых изучены лучше всего, являются CRBN и VHL, но лиганды VHL имеют достаточно сложную структуру и ограниченную возможность их модификации, тогда как получение различных лигандов CRBN на основе глутаримида широко представлено в литературе; 3) в клинических испытаниях исследуется лишь 1 молекула PROTAC на основе диспироиндолинона (КТ-253), направленная на MDM2, поэтому дальнейшие исследования по этой теме является актуальной задачей.

2.3. Спиро- и диспироиндолиноны как потенциальные противоопухолевые агенты и методы их синтеза

В данном разделе представлены литературные данные по синтезу и биологической активности соединений, содержащие в своей структуре фрагмент спироиндолинона или диспироиндолинона. При рассмотрении методов синтеза наибольшее внимание уделено оксиндолам, спиро-сочленённым с пирролидином, как соединениям, синтез и исследование которых представлены в настоящей диссертационной работе.

2.3.1. Спиро- и диспироиндолиноны как биологически активные вещества

Структурный фрагмент оксиндола (индолинона) считается «привилегированным» в медицинской химии по причине присутствия его в большом количестве биологически активных природных и синтетических соединений (Рисунок 2.26) [155].

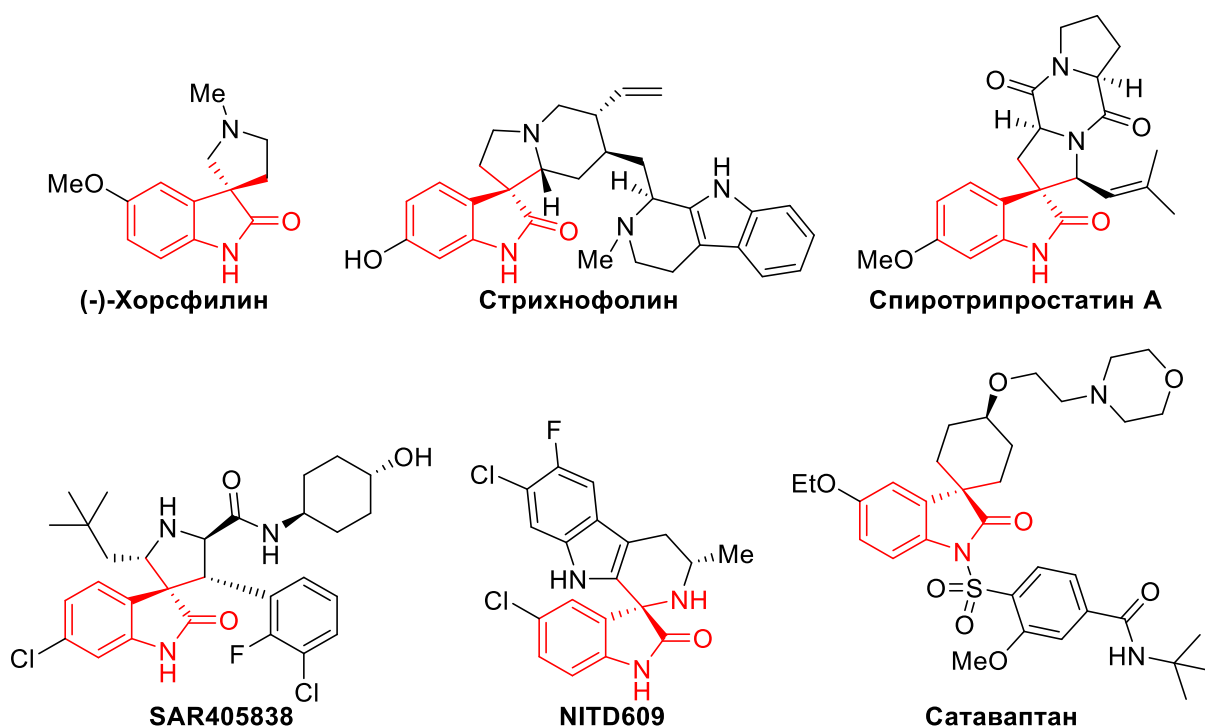


Рисунок 2.26. Структуры некоторых биологически активных спироиндолинонов

(-)-Хорсфилин (*horsfieldine*), выделенный в 1991 году из растения *Horsfieldia superba* и позднее полученный синтетически, — природный алкалоид, обладающий обезболивающим действием [156,157]. *Стрихнофолин* (*Strychnofoline*) — алкалоид, проявляющий противоопухолевую и противомикробную активность [158,159]; *спиротрипростатин А* (*Spirotryprostatin A*) — индолиноновый алкалоид класса 2,5-дикетопиперазинов, полученный впервые в 1999 году и обладающий анти-митотическими свойствами [160,161]. **NITD609** (*Cipargamin*) — спироиндолинон, синтезированный компанией Novartis в конце 2000-х годов, обладающий значительной противомаларийной активностью, в настоящий момент находится на II фазе клинических испытаний [162,163]. *Сатавантан* (*Satavaptan*) — антагонист рецептора вазопрессина V₂, исследовавшийся для лечения гипонатриемии в ходе III фазы клинических испытаний [164,165].

Спироиндолиноны, как полученные синтетически, так и выделенные из природных объектов, могут проявлять биологическую активность по различным механизмам. Одна из ключевых областей, в которой спиро- и диспироиндолиноны активно исследуются — это конкурентное ингибирование белок-белкового взаимодействия p53-MDM2 [166].

Белок p53 является супрессором опухолей, а также основным белком, регулирующим остановку клеточного роста, старение и апоптоз в ответ на широкий спектр повреждений в клетке [167]. Быстрая индукция p53 под воздействием различных типов стресса в клетках приводит к повышению концентрации белка p53, предотвращающего нежелательное

размножение клеток, несущих потенциально мутагенную поврежденную ДНК. p53 способен вызывать апоптоз по транскрипционно-зависимому и транскрипционно-независимому пути в ядре и митохондриях [168]. Низкий уровень p53 в здоровых клетках объясняется деградацией, опосредованной его эндогенным ингибитором — белком MDM2. Отличительной чертой многих путей клеточного стресса, таких как повреждение ДНК, гипоксия, укорачивание теломер и активация онкогена, является повышение концентрации p53 посредством блокировки его деградации. Последнее десятилетие MDM2 рассматривают в качестве основного клеточного антагониста p53, ограничивающего его функцию как опухолевого супрессора. MDM2 является E3-убиквитинлигазой по отношению к p53, перенося один остаток убиквитина на лизиновые остатки p53, после чего последний подвергается полиубиквитинированию и деградации в протеасоме по механизму, описанному в разделе 2.2 настоящего обзора.

MDM2 взаимодействует своим терминальным NH₂-доменом с α -спиралью терминального трансактивационного NH₂-домена p53, тем самым блокируя его транскрипционную активность. Кристаллографические данные свидетельствуют о формировании гидрофобного кармана MDM2, с которым взаимодействует трансактивационный домен p53.

На данный момент идентифицировано значительное количество низкомолекулярных ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2, которые можно разделить на несколько классов: имидазолины (серия Nutlins, **RG-7112**), бензодиазепиндионы (**TDP665759**), спирооксиндолы (**SAR405838**), пиперидиноны (**AMG232** и **CGM097**), изоиндолиноны. Некоторые из них уже прошли клинические испытания для оценки эффективности против различных видов рака: это соединения **SAR405838**, **MK-8242**, **DS-3032b**, **RG7112**, **RG7388**, **AMG 232** и **APG-115** (Рисунок 2.27) [169].

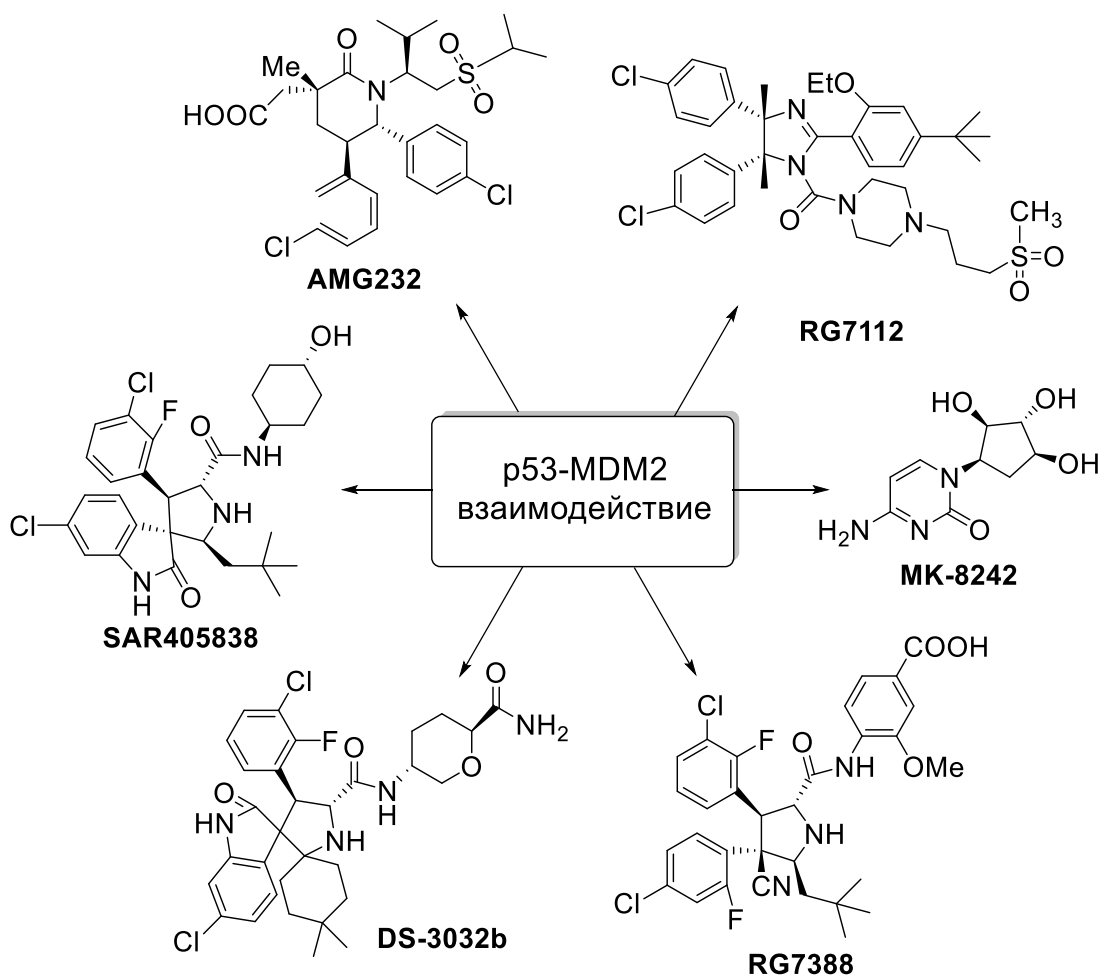


Рисунок 2.27. Примеры низкомолекулярных ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2

Особое внимание различных научных групп привлекают ингибиторы MDM2 на основе соединений, содержащих фрагмент спироиндолинона. В 2005 году впервые с помощью методов молекулярного дизайна была предложена формула вещества **MI-5** (Рисунок 2.28), структуру которого затем оптимизировали путем увеличения гидрофобности за счет замены изобутильного заместителя на 2,2-диметилпропил в **MI-17**, что привело к 98-кратному увеличению активности. Затем был проведен ряд исследований для повышения активности связывания ингибиторов серии **MI** с MDM2. Путём варьирования заместителей была улучшена растворимость в воде и увеличена активность ингибитора, что привело к получению соединения **MI-888**, которое в испытаниях *in vivo* полностью устранило опухоль за счёт более эффективного связывания с MDM2 из-за наличия двух ароматических колец в *транс*-конфигурации. Ещё более эффективный аналог **MI-773-01** (или **SAR405838**) был разработан путём оптимизации амидной боковой цепи **MI-888**; его связывание с MDM2 достигало $K_i = 0.88$ нМ с высокой селективностью и высокой специфичностью по сравнению с другими белками. **SAR405838** проявил высокую цитотоксическую активность на клеточной линии ксенотрансплантатов SJSA-1 (остеогенная саркома), RS4;11 (лейкемия), LNCaP (рак предстательной железы) и HCT-116 (колоректальный рак) [170].

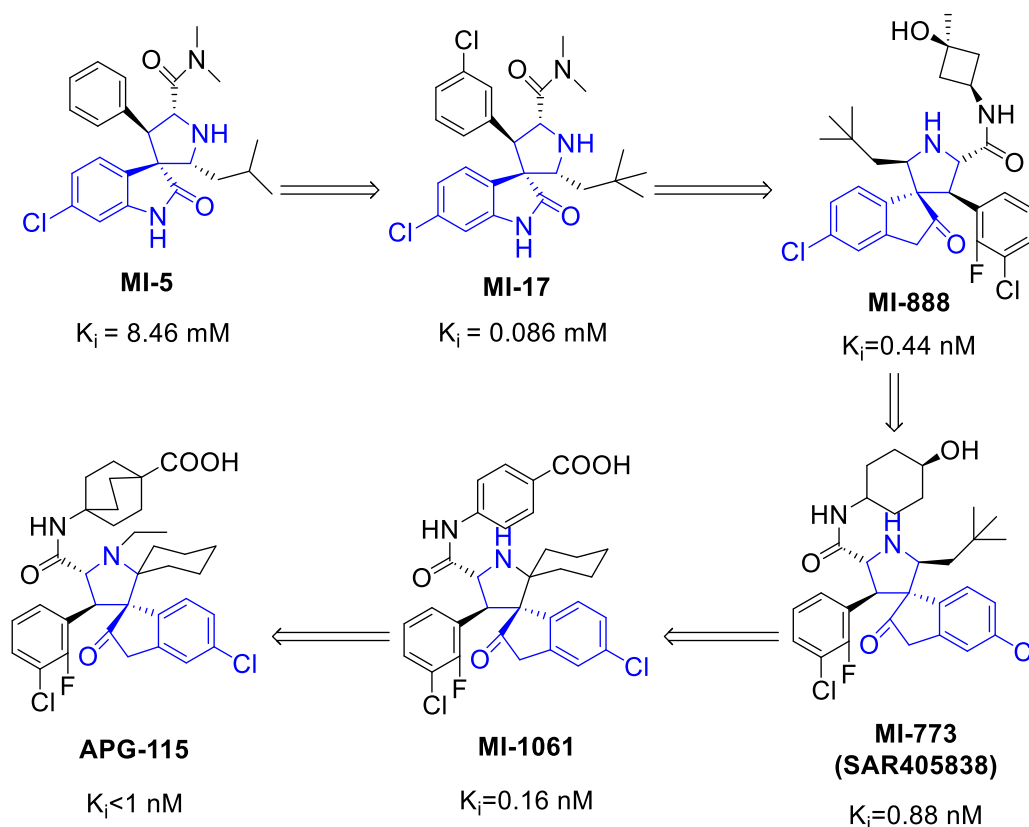


Рисунок 2.28. Эволюция ингибиторов серии MI на основе спироиндолинона

Последующие исследования показали, что **MI-888** может подвергаться изомеризации с раскрытием цикла в протонных растворителях с образованием смеси четырёх диастереомеров. На основании этого была разработана серия спирооксиндолов второго поколения с улучшенной химической стабильностью и эффективностью — **MI-1061** ($K_i = 0,16 \text{ nM}$) [171].

Научной группой под руководством Graves была идентифицирована ещё одна серия ингибиторов MDM2, таких как **RG7388**, **RO8994**, **RO2468** и **RO5353** (Рисунок 2.29) [171]. Соединение **RG7388** содержит оксиндольный каркас, и замена в нём концевой карбоксильной группы на карбоксамидную позволила получить соединение **RO8994** с повышенной селективностью и эффективностью *in vivo* по сравнению с **MI-888**. Далее было проведено биоизостерическое замещение фенильного кольца на пиридиновое и тиофеновое в соединении **RO8994** в результате чего были созданы препараты **RO2468** и **RO5353** с высокой эффективностью *in vivo* на моделях ксенотрансплантатов SJSA-1.

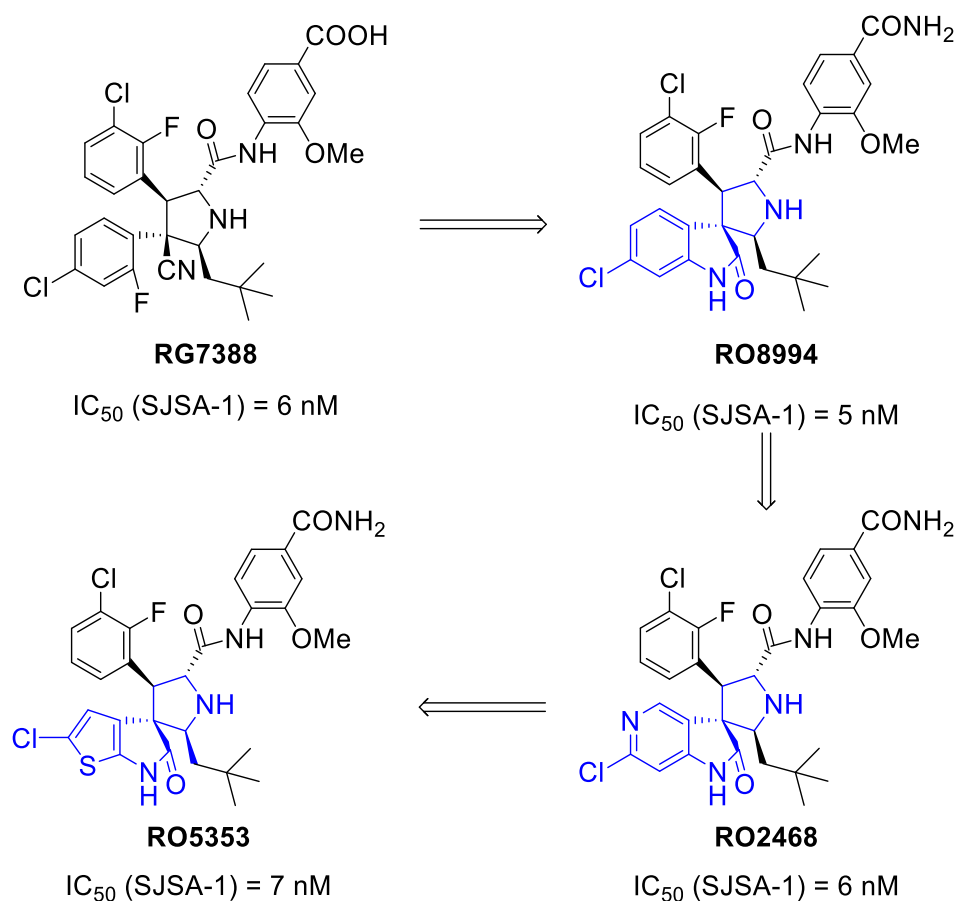


Рисунок 2.29. Соединение **RG7388** и последующая его модификация. Синим цветом выделен спироиндолиновый фрагмент

Arnhold в 2018 году [172] предложил структуру ингибитора **DS-3032b**, который в настоящее время находится в I фазе клинических испытаний. **DS-3032b** избирательно индуцирует экспрессию CDKN1A (белок-ингибитор циклин-зависимой киназы 1A, играющий важную роль в ответе на повреждения ДНК), BAX (регулятор апоптоза) и MDM2 в клетках нейробластомы (Рисунок 2.30, а).

В 2020 году Shirai и коллеги получили спироиндолиновые соединения, проявляющие противораковую активность благодаря ингибированию танкираз [173]. Танкиразы — ферменты из семейства поли(АДФ-рибозо)-полимераз, ингибирование их ферментативной активности ослабляет передачу сигналов Wnt/ β -катенин, которая играет важную роль в патогенезе рака. Полученное в вышеуказанной работе соединение **RK-582** (Рисунок 2.30, б) демонстрирует значительное ингибирование роста опухоли на клеточной линии колоректального рака COLO-320DM [174].

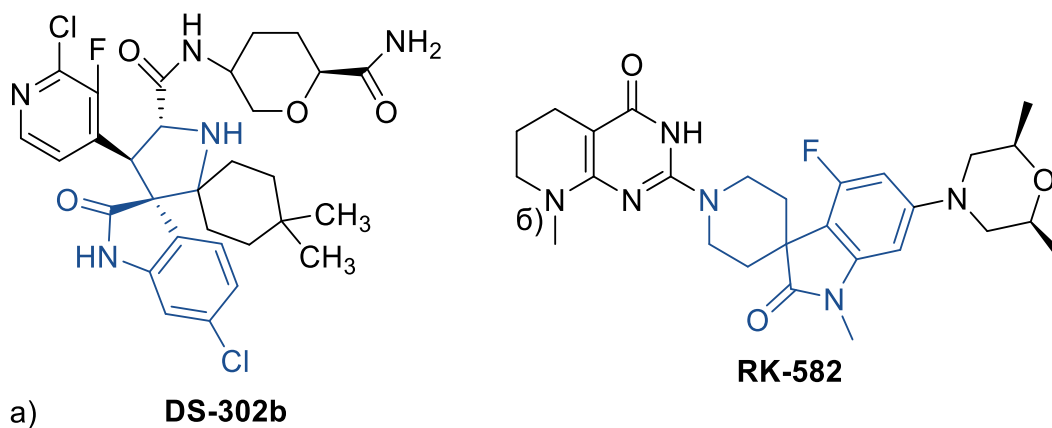


Рисунок 2.30. а) Структура ингибитора **DS-302b**; б) структура соединения **RK-582**

В лаборатории БАОС химического факультета МГУ были предложены и синтезированы низкомолекулярные ингибиторы белок-белкового взаимодействия p53-MDM2 на основе диспироиндолинонов [175–184]. Эти соединения имеют жёсткую структуру за счёт наличия двух последовательно спиро-сочленённых фрагментов, и их молекулы легко поддаются дальнейшим модификациям за счёт наличия различных функциональных групп (Рисунок 2.31). В биологических исследованиях *in vivo* была показана высокая цитотоксическая активность данного класса соединений на различных клеточных линиях злокачественных опухолей (рак лёгкого A549, аденокарцинома молочной железы MCF7, рак предстательной железы LNCaP и PC3).

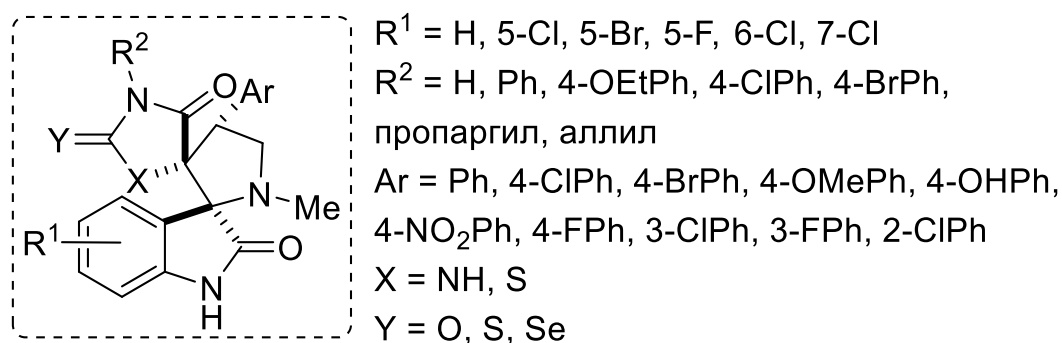


Рисунок 2.31. Общая структура диспироиндолинон-пирролидин-имидазолов — ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2

2.3.2. Основные подходы к синтезу спироиндолинового каркаса

Поскольку фрагмент спирооксиндолина является широко распространённым в природных и биологически активных соединениях, в литературе представлено большое количество статей, а также монография [185], в которых описано получение спирооксиндолов различного строения. В настоящем разделе обзора описано получение индолинонов, спиро-сочленённых с пирролидиновым циклом, поскольку подобные соединения являются предметом исследований настоящей диссертации.

Одним из наиболее удобных методов получения устойчивых пятичленных гетероциклов, в том числе и спиро-сочленённых, являются реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения, впервые проведённые Р. Хьюсеном в 1960 году [186]. В результате реакции образуется пятичленный углеродный или гетероциклический аддукт (Рисунок 2.32) [187].

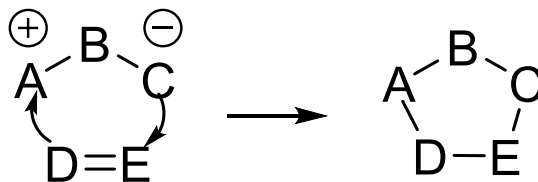


Рисунок 2.32. Схема реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения: A-B-C — 1,3-диполь, D=E — диполярофил

Широко используемым в этих реакциях типом 1,3-диполей являются нитроны. 4 π -электронная система нитрона состоит из двух π -электронов двойной связи N=C и двух π -электронов неподелённой электронной пары атома кислорода. Эти 1,3-диполи являются одновременно и электрофилами и нуклеофилами, вследствие чего они могут реагировать, используя или свою ВЗМО, или свою НСМО в зависимости от того, является ли диполярофил электронодефицитной или электроноизбыточной системой [188].

В 2022 году Yuan и коллеги опубликовали [189] методику получения спирооксиндол-бензо[d]оксазолов **12**, используя последовательное 1,3-диполярное циклоприсоединение N-винилизатиннитрона **10** к *o*-силиларилтрифлатам **11** с последующей перегруппировкой аддукта (Рисунок 2.33). Стерический эффект заместителя при винильном фрагменте нитрона определяет направление перегруппировки: в случае протона проходит [1,3]-перегруппировка с образованием желаемого спиросоединения **12**, тогда как аддукты с другими заместителями подвергаются [3,3]-перегруппировке, образуя енамин **13**. Реакцию проводили в мягких условиях с использованием CsF в качестве источника фторид-аниона и 18-краун-6 как катализатора, выходы в оптимизированных условиях превышали 80%.

На основании предыдущих исследований [190] и ЯМР-эксперимента авторами был предложен следующий механизм реакции (Рисунок 2.34): из *o*-силиларилтрифлата **11** под воздействием основания Льюиса (CsF) *in situ* генерируется замещённый арин **14**, который выступает в качестве диполярофила, присоединяющего нитрон, с образованием циклоаддукта **A**. Если заместителем R¹ является атом H, то интермедиат **A** подвергается [1,3]-перегруппировке на атоме N посредством разрыва лабильной N-O связи с образованием спироазиридина **B**, который быстро претерпевает ретро-реакцию Манниха с образованием соли иминия **C**, внутримолекулярная циклизация которой приводит к образованию желаемого спирооксиндол-бензо[d]оксазола **12**.

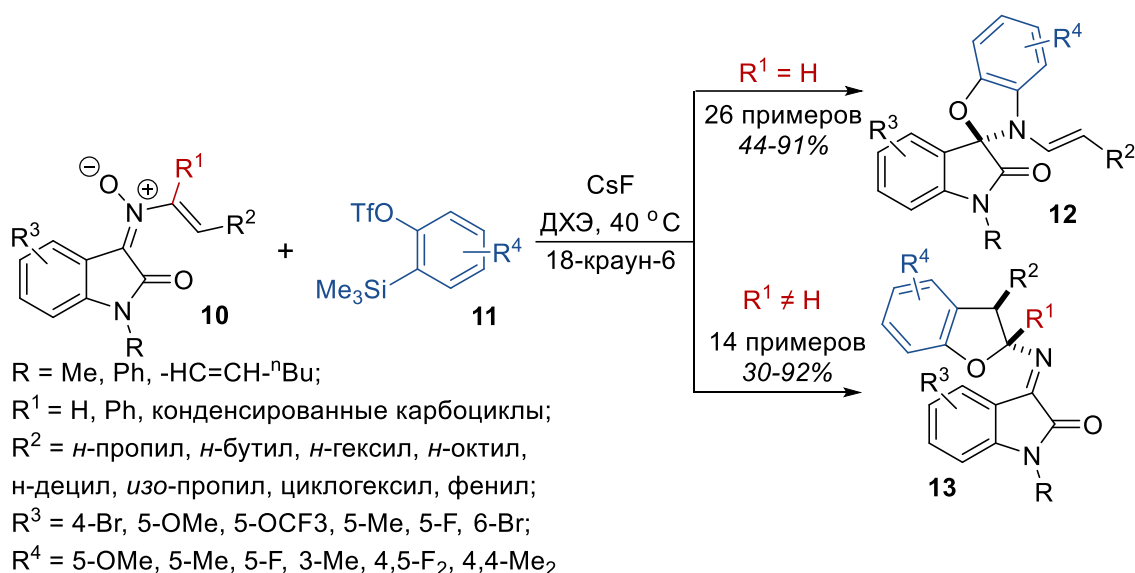


Рисунок 2.33. Получение спирооксиндол-бензо[d]оксазолов, используя нитроны на основе изатина и генерируемый *in situ* арин

В случае, когда R^1 не является атомом водорода, [1,3]-перегруппировка становится неблагоприятной из-за стерических затруднений между карбонильной группой фрагмента изатина и заместителем R^1 в трехчленном цикле (как в интермедиате **B**). [3,3]-Сигматропная перегруппировка винильного фрагмента, наоборот, позволяет минимизировать стерическое напряжение за счёт образования пятичленного цикла, таким образом образуется промежуточное соединение **D**. Далее протекает ретро-реакция Манниха с образованием иона иминия **E**, который после внутримолекулярной циклизации превращается в дигидробензофурановое производное **13**.

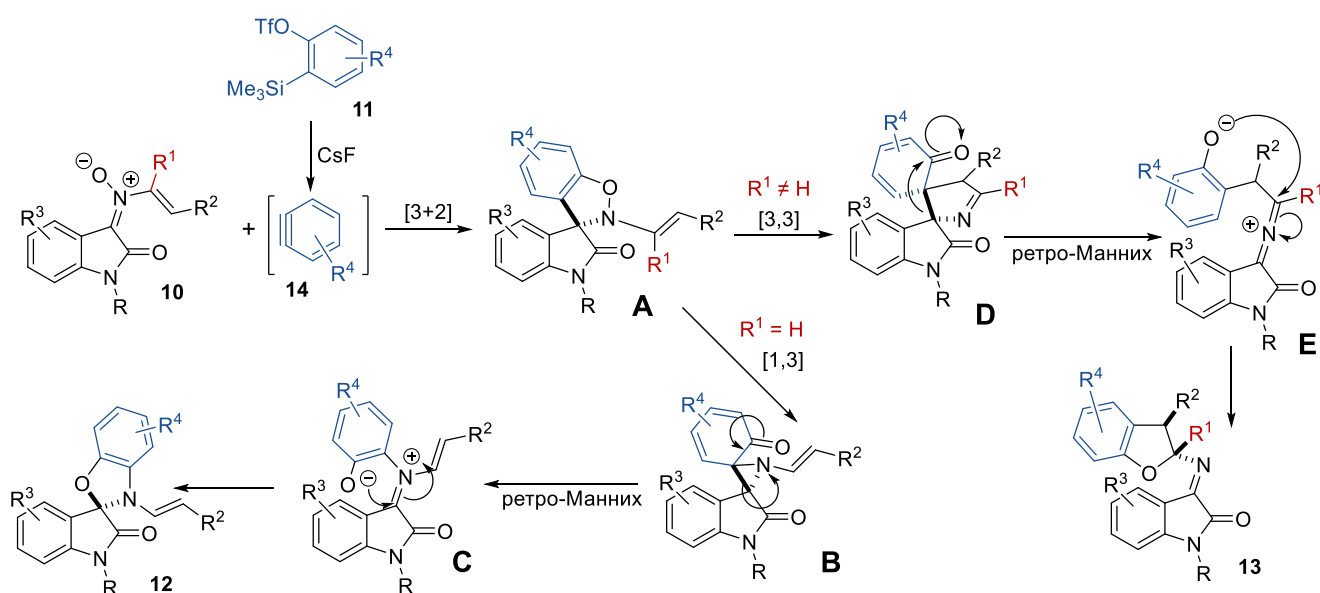


Рисунок 2.34. Предполагаемый механизм образования спирооксиндол-бензо[d]оксазолов

В 2022 году Yao и коллеги разработали [191] регио-и диастереоселективный способ получения 1'-гидроксиспироиндолин-2,3'-пирролидинов **17** с помощью реакции (3+2)-

циклоприсоединения (Рисунок 2.35). В ходе реакции нитрон **15**, полученный из изатина и гидроксилamina, региоселективно присоединялся к электрон-дефицитному пента-2,4-диеннитрилу **16** (1,6-присоединение), затем полученный аддукт подвергался внутримолекулярной циклизации, образуя спиро соединение с хорошим выходом и высокой диастереоселективностью ($dr > 20:1$).

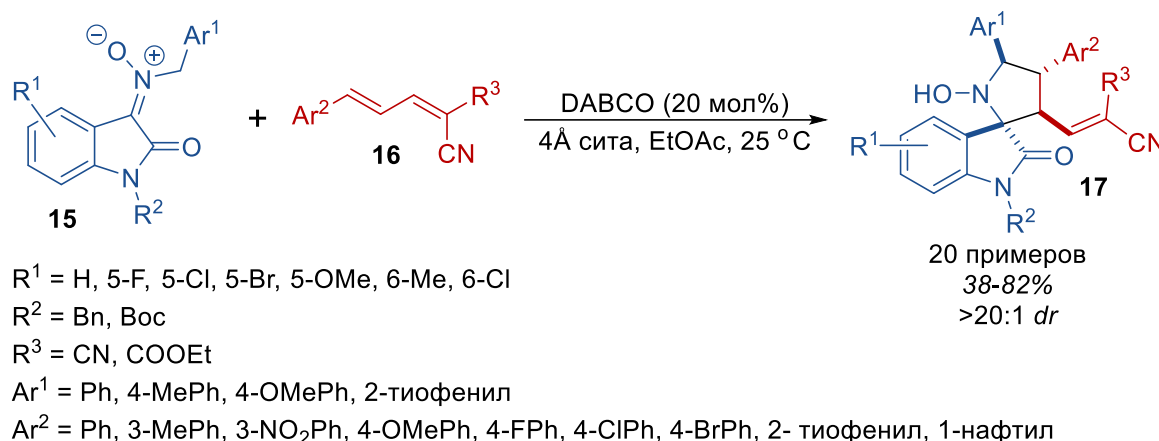


Рисунок 2.35. Получение спирооксиндола из нитрона на основе изатина и электрон-дефицитного диена

Описано и присоединение диполей на основе азометинилидов, которые обычно получают *in situ* путём взаимодействия карбонильных соединений с аминокислотами или их производными [192–194]. Например, в 2020 году был предложен регио- и стереоселективный метод 1,3-диполярного циклоприсоединения, в ходе которого получали производные спироиндолинона **21** посредством трехкомпонентной реакции. В качестве диполярофила использовали *N*-алкил-4-этинил-7-азаиндол **18**, который смешивали с изатином **19** и *L*-пролином **20** в метаноле с последующим нагреванием до 50 °C (Рисунок 2.36) [188].

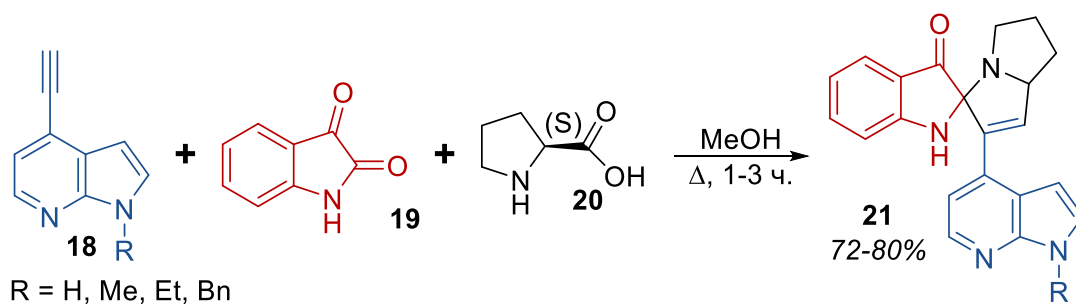


Рисунок 2.36. Реакция 1,3-диполярного циклоприсоединения азометинида, получаемого из изатина и пролина, к терминальному алкину

Механизм реакции заключается в первоначальной атаке неподелённой пары электронов атома азота *L*-пролина **20** на карбонильный атом углерода во 2-м положении изатина **19**. Далее в кислой среде происходит дегидратация полученного соединения с образованием двойной C=N связи и декарбоксилирование, приводящее к образованию диполя. Затем в реакцию вступает производное азаиндола **18**, содержащее тройную углерод-углеродную связь, которая выступает

в качестве диполярофила. В ходе реакции региоселективно образуется целевой спироиндолинон с хорошим выходом (Рисунок 2.37).

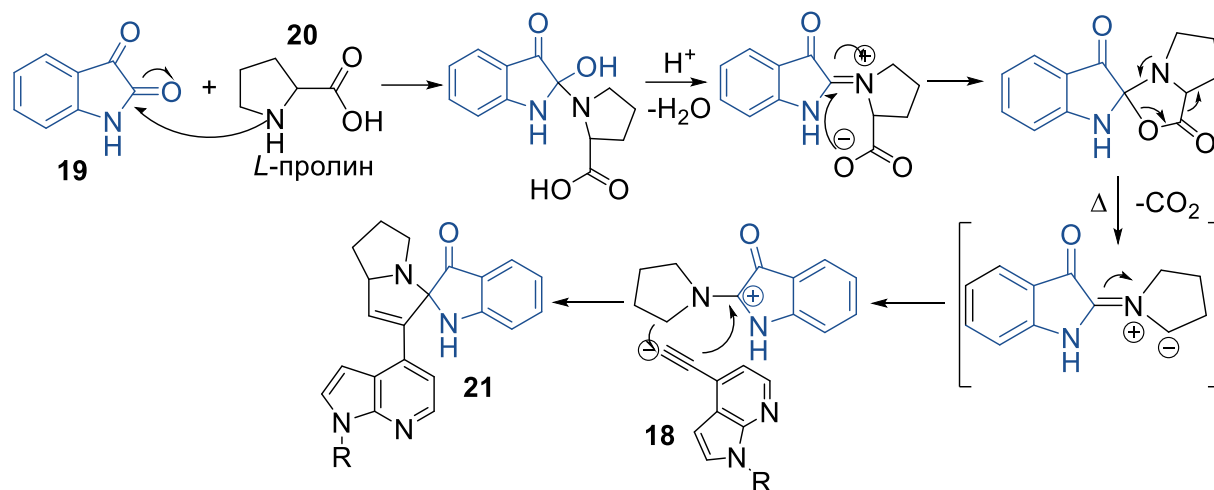


Рисунок 2.37. Механизм 1,3-дипольного циклоприсоединения азометинида, получаемого из изатина и пролина, к терминальному алкину

В 2022 году группой Zhang был разработан [195] одnoreакторный метод диастереоселективного получения спирооксиндол-пирролизидинов **28** с помощью последовательного двойного (3+2)-циклоприсоединения. Этот метод приводит к получению сложной циклической системы с 7 стереоцентрами из 5 компонентов: сложного эфира глицина **22**, двух эквивалентов ароматического альдегида **23** и **25**, производного малеимида **24** и 3-алкилидензамещённого изатина **26** (Рисунок 2.38).

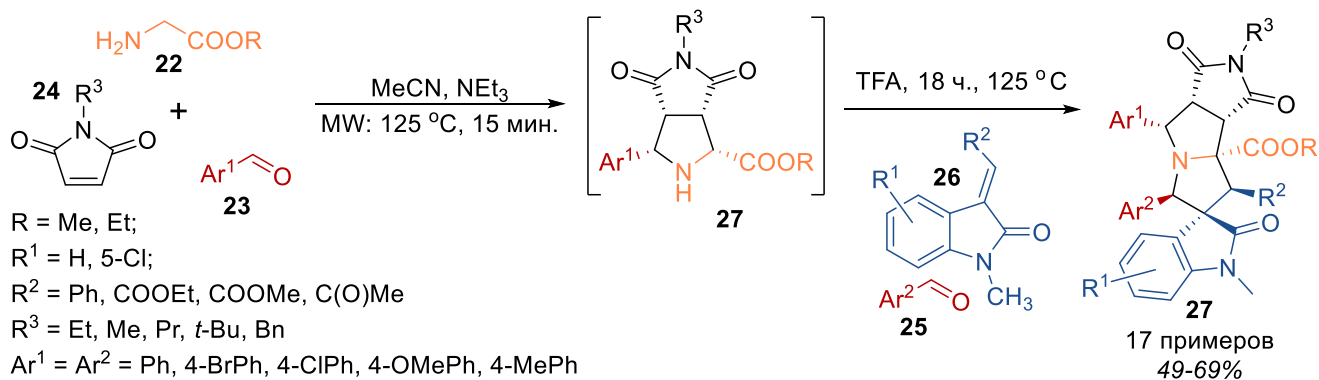


Рисунок 2.38. Получение спироиндолинона с помощью двух последовательных реакций (3+2)-циклоприсоединения

Авторами работы был предложен следующий механизм реакции (Рисунок 2.39): одна молекула ароматического альдегида **23** и эфир глицина **22** образуют *in situ* ациклический нестабильный азометинирид **I**, который быстро реагирует с малеимидом **24**, образуя продукт *эндо*-циклизации **27**, структура которого была подтверждена с помощью РСА. Присоединение следующей молекулы альдегида **25** к интермедиату **27** приводит к образованию ещё одного

азометинилида **II**, который далее региоселективно реагирует с алкилиден-замещённым изатином **26**, образуя целевой продукт **28**.

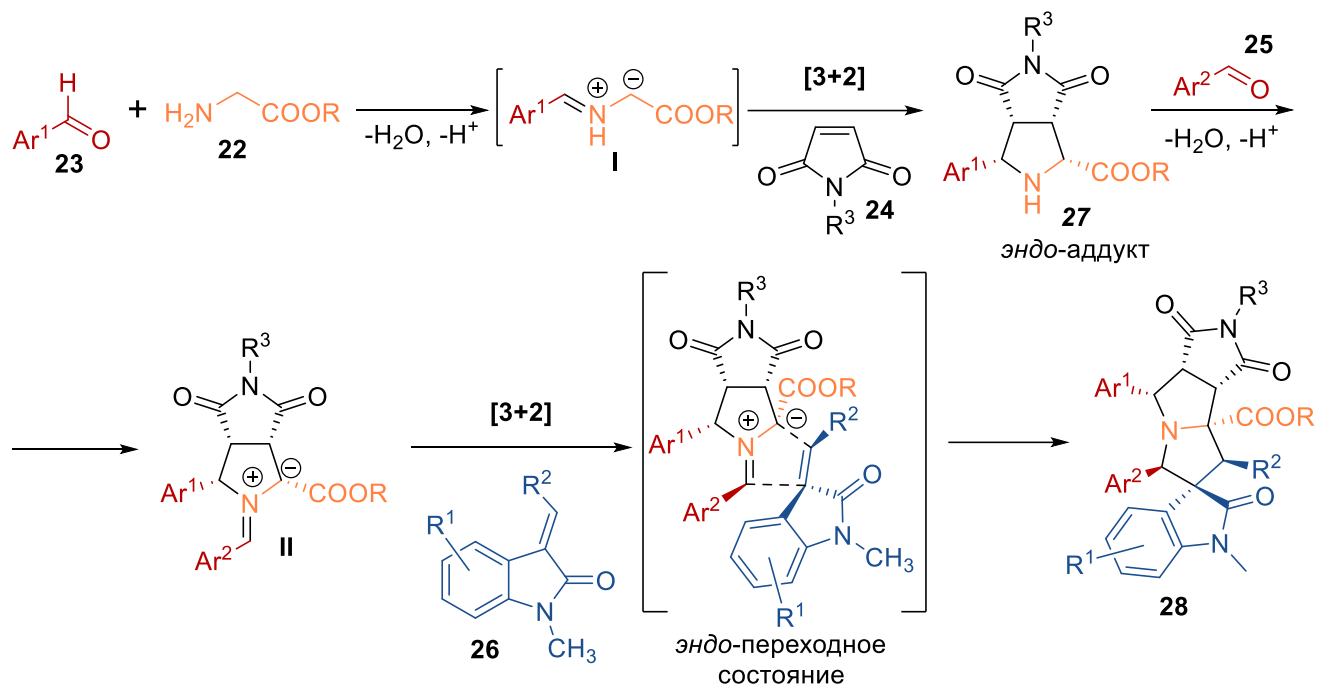


Рисунок 2.39. Предполагаемый механизм диастереоселективной двойной реакции (3+2)-циклоприсоединения

В лаборатории БАОС МГУ в 2015 году был разработан [179] удобный способ получения производных диспироиндолинон-пирролидин-имидазолов **32** реакцией (3+2)-циклоприсоединения, где в качестве диполя выступает азометинилид, а диполярофила — (*Z*)-5-арилметилензамещённое производное 2-тиогидантоина **31** (Рисунок 2.40). Позднее этот синтетический подход был распространён на производные гидантоинов, 2-селеногидантоинов и роданинов [177,180,181], а также был разработан способ получения энантимерно чистых диспироиндолинонов с помощью введения дополнительной хиральной группы к атому N(3)-имидазолидина [178,182].

Механизм реакции заключается в образовании азометинилида из изатина **29** и саркозина **30**, который далее региоселективно присоединяется по двойной C=C связи арилиденимидазолон (Рисунок 2.41). Реакции протекают регио- и диастереоселективно.

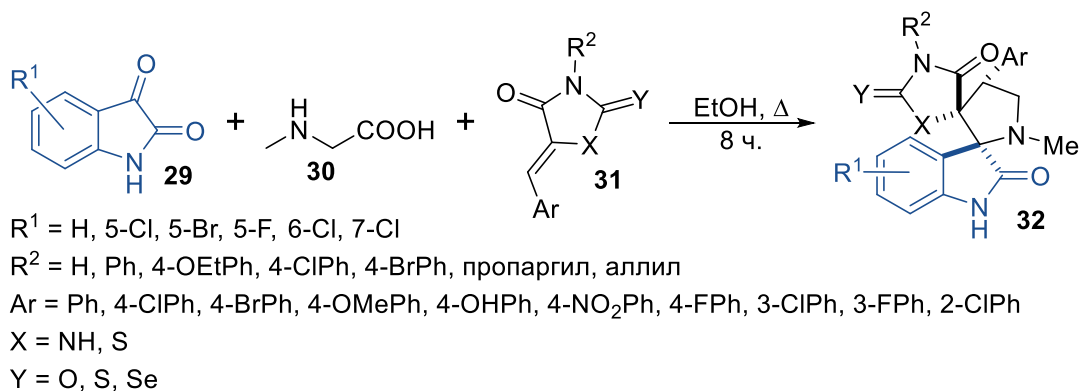


Рисунок 2.40. Получение диспироиндолинон-пирролидин-имидазолов

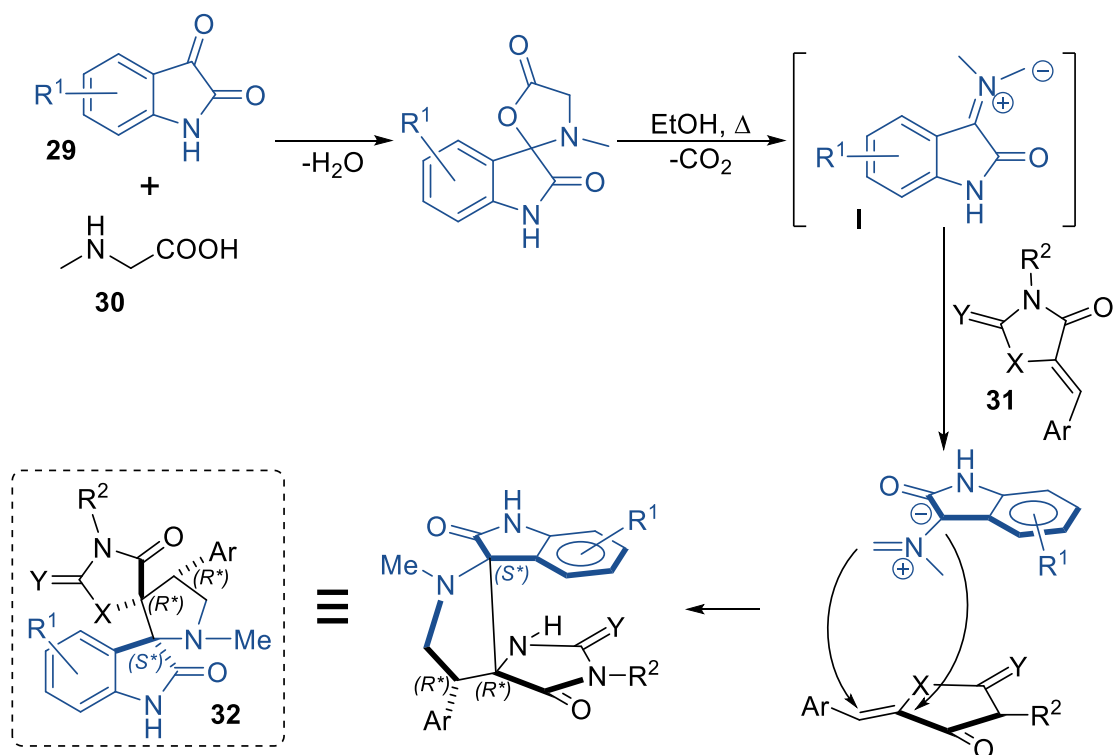


Рисунок 2.41. Предполагаемый механизм регио- и диастереоселективного (3+2)-циклоприсоединения азометинилида **I** к 5-арилметилидензамещённому 2-тиогидантитоину **31**

В 2018 году было описано получение спирооксиндол-3,2'-пирролидина **35** на основе реакции (3+2)-циклоприсоединения диполя, получаемого *in situ* из изатинимина **34**, к замещённому бензолу **33** в присутствии слабых оснований — ТВАФ (тетрабутиламмония фторид) или ТВАТ (дифтортрифенилсиликат тетрабутиламмония). В ходе реакции удалось получить спироиндолинон с двойной углерод-углеродной связью и $-\text{CF}_3$ заместителем, который способен повысить устойчивость препарата в клетке за счёт увеличения липофильности [196]. В дополнение к этому фрагменты спироиндолинона и $-\text{CF}_3$ являются известными фармакофорами, способными оказывать влияние на CDKN1A, VAX и белок-белковое взаимодействие p53-MDM2 (Рисунок 2.42) [172].

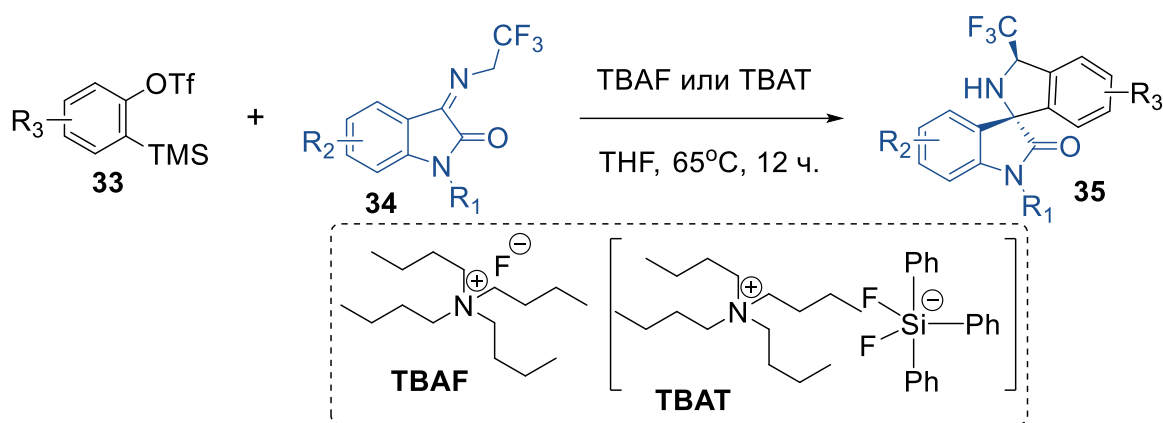


Рисунок 2.42. (3+2)-Циклоприсоединение диполя, образующегося из иминоимидазола, к замещённому бензолу

В качестве источника диполярфила выступает дизамещённое производное бензола **33**, а диполя — азометинилид, полученный по реакции конденсации изатина и $\text{CF}_3\text{CH}_2\text{NH}_2$. Механизм реакции включает в себя отщепление протона от имина **34** с помощью основания, в результате чего образуется азометинилид, который может вступить либо в реакцию (3+2)-циклоприсоединения с дегидробензолом **36**, либо в реакцию (3+3)-циклоприсоединения с второй молекулой азометинилида с образованием димера **37**. Обойти проблему наличия конкурентного процесса димеризации удалось путем замены TBAF на TBAT в качестве источников ионов фтора (Рисунок 2.43).

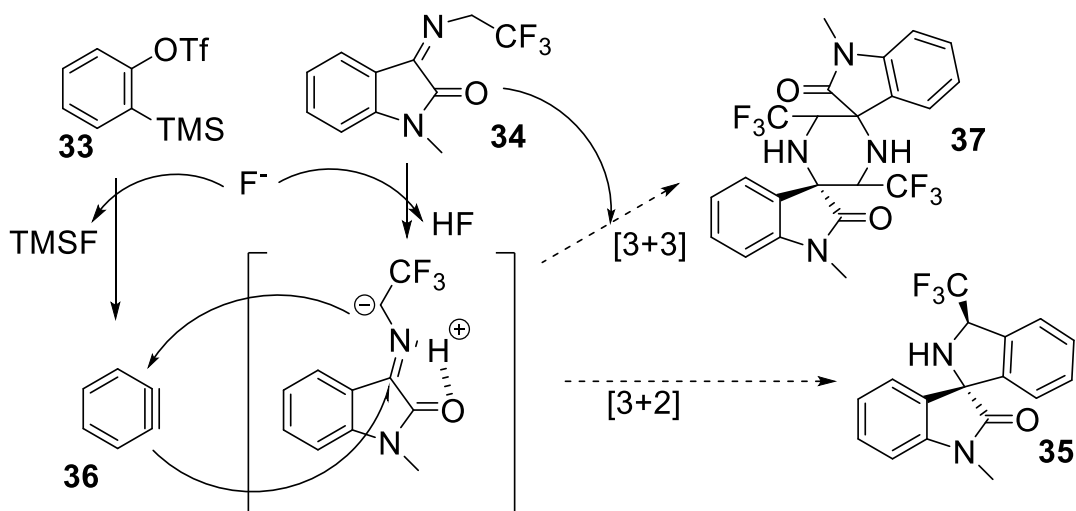


Рисунок 2.43. Схема получения двух различных спироиндолинонов с помощью конкурентных реакций (3+2) и (3+3)-циклоприсоединения

В 2018 году группе Chen удалось получить спироиндолиноны **40** с высокой стереоселективностью (*ee* до 90%) и выходами до 99% реакцией (3+2)-циклоприсоединения между 3-аминооксиндолом **38**, бензальдегидом **23** и 3-нитро-2H-хроменом **39** (Рисунок 2.44) [197]. Серия экспериментов показала, что органические основные катализаторы, например, гуанидин-*D*-тарtrate, обеспечивают высокие выходы и хорошую диастереоселективность. Путём

замены катализатора на хиральный фосфат (CPA) удалось повысить соотношение диастереомеров до *dr* 20:1, а энантиоселективность до 96% *ee*. Акцепторные заместители в бензальдегиде положительно влияют на энантиоселективность, при использовании *мета*-замещённых бензальдегидов наблюдалось снижение энантиоселективности.

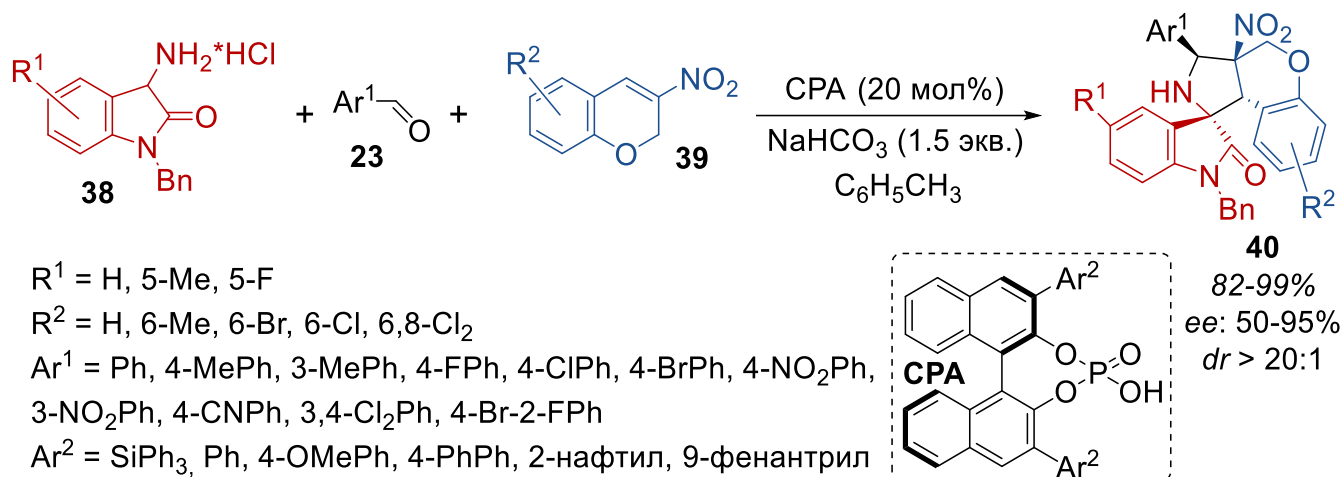


Рисунок 2.44. Энантиоселективное получение замещённых диспироиндолинонов с помощью катализа хиральным фосфатом

На основе анализа конфигурации циклоаддукта **40** была предложена модель переходного состояния (Рисунок 2.45), которая объясняет стереоселективность реакции. Посредством водородных связей гидроксигруппа хирального фосфата взаимодействует с нитрогруппой 3-нитро-2Н-хромена **39**, повышая реакционную способность диполярофила, и одновременно фосфорильная группа активирует азометинил, обеспечивая возможность эндо-циклоприсоединения.

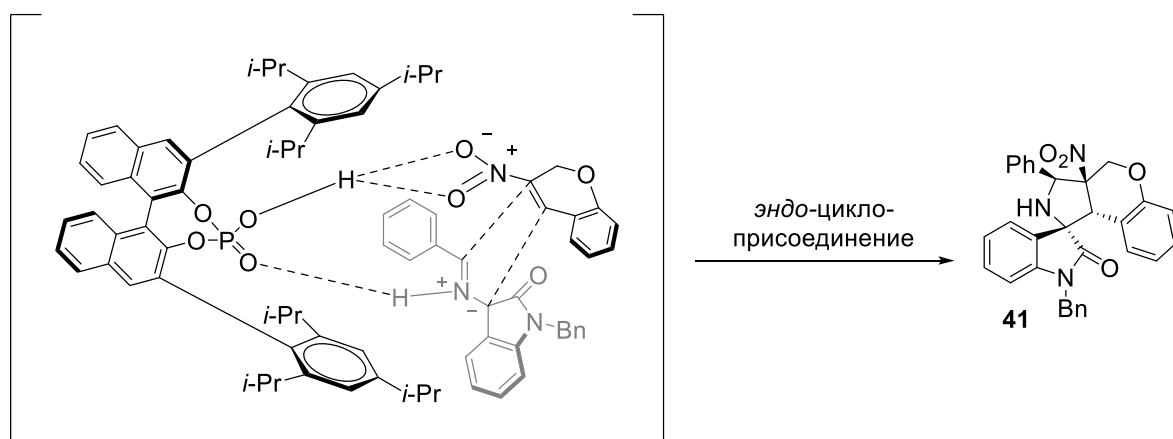


Рисунок 2.45. Предполагаемый механизм стереоконтроля хиральным фосфатом

В 2023 г. была опубликована статья [198], в которой получили спирооксиндол **44**, содержащий в своей структуре остаток изатина, бензимидазола и триазола, с помощью одnoreакторного (3+2)-циклоприсоединения. В реакцию вступало производное халкона **42** и

генерируемый *in situ* из изатина **19** и октагидроиндол-2-карбоновой кислоты **43** азометинилид (Рисунок 2.46).

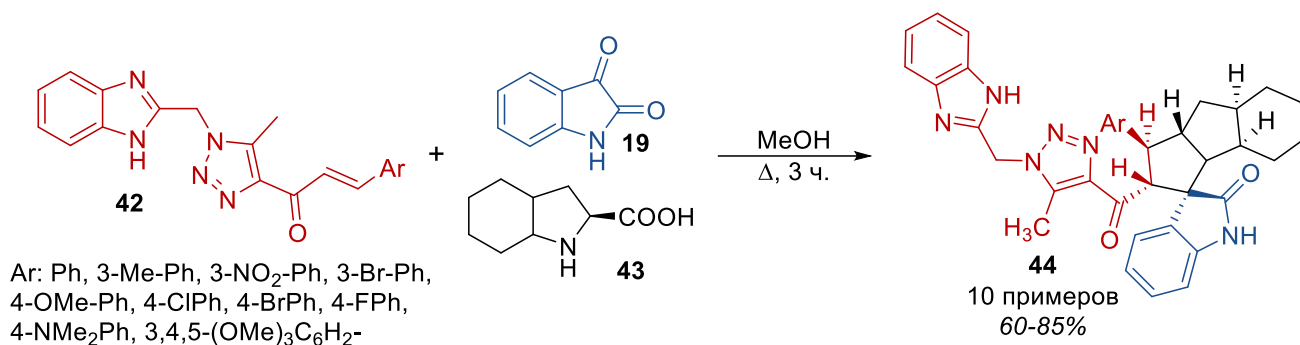


Рисунок 2.46. Получение спирооксиндолов с фрагментами бензимидазола и триазола

Авторы работы [199] в 2020 году получили диспиропроизводное индолинона **48** при смешивании *L*-(-)-тиазолидин-4-карбоновой кислоты **45**, аценафтен-1,2-диона **46** и 3-(пиридин-3-илметил)индолин-2-она **47** в смеси метанола и воды (Рисунок 2.47). Механизм реакции заключается в нуклеофильной атаке атома азота по карбонильной группе с последующим декарбоксилированием в кислой среде. Основным преимуществом данного метода получения диспироиндолинонов является высокий выход целевого продукта.

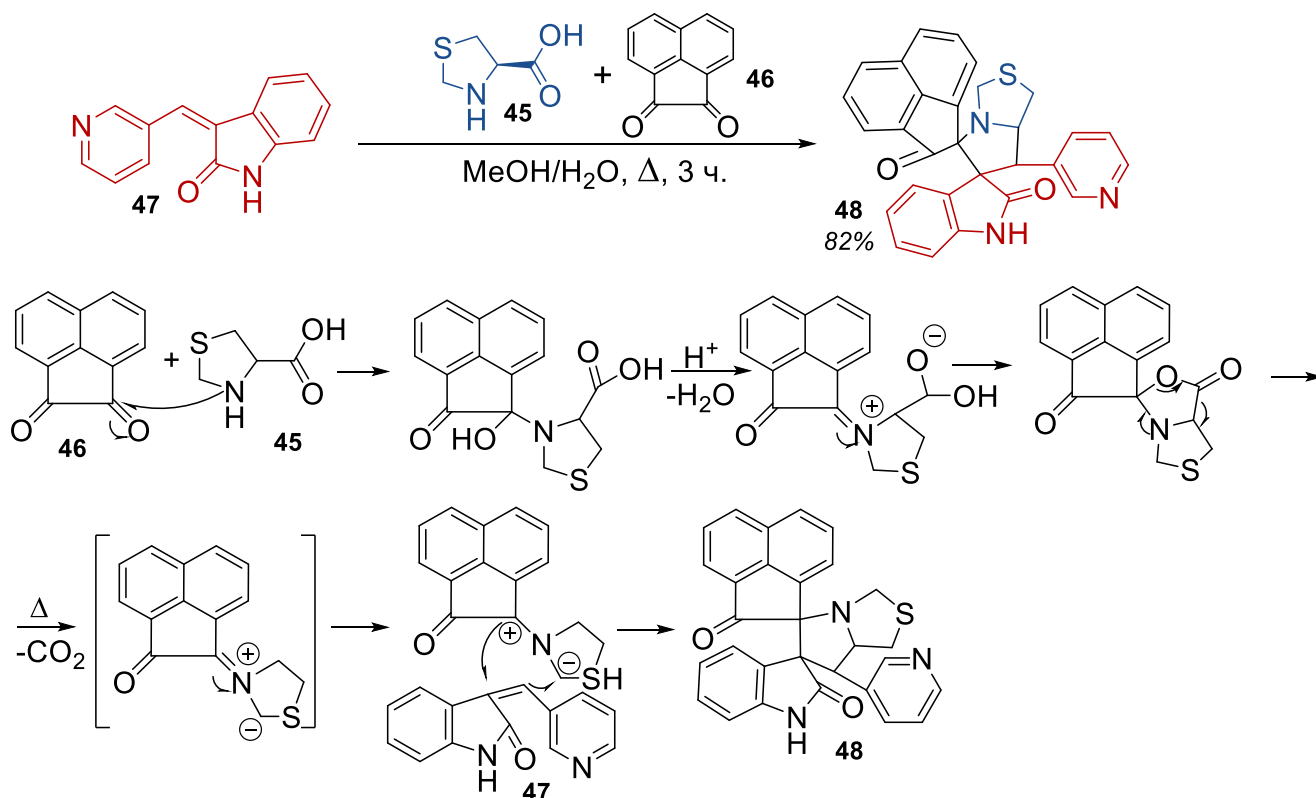


Рисунок 2.47. Получение замещённого диспироиндолинона из аценафтен-1,2-диона

В 2023 году группой Zhou был предложен [200] хемо- и диастереоселективный метод получения спирооксиндол-пиразолинов **51** с хорошими выходами с помощью присоединения

азоалкенов **49** (выступающих в качестве четырёхатомного синтона) и различных изатинов **50**, используя $P(NMe_2)_3$ в ДХМ (Рисунок 2.48). В ходе конденсации из фосфина и α -дикарбонильного соединения **50** образуется 1,3-диполь, а завершается реакция внутримолекулярным S_N2 замещением. Большинство продуктов получились с диастереомерным соотношением, превышающим 20:1; структура конечных соединений была подтверждена методами РСА и 2D ЯМР-спектроскопии.

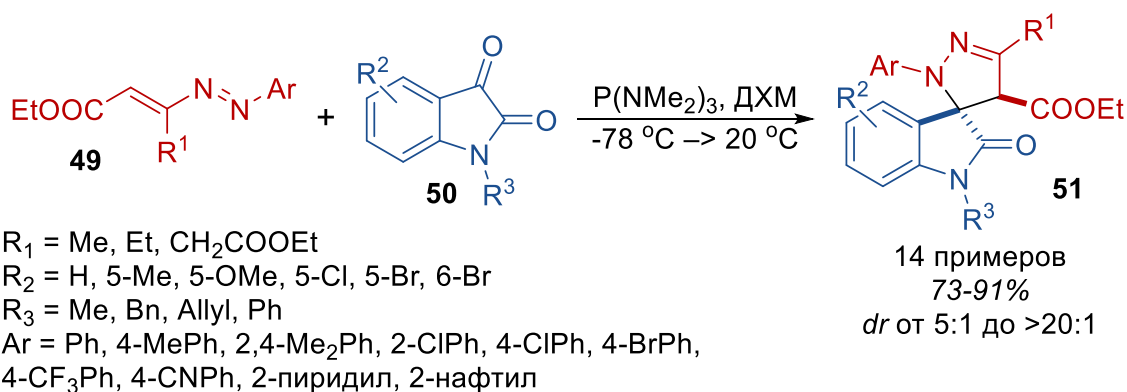


Рисунок 2.48. Диастереоселективный синтез спирооксиндол-пиразолинов

Авторами работы был предложен механизм вышеописанной реакции (Рисунок 2.49), в котором сначала фосфин $P(NMe_2)_3$ присоединяется к α -дикарбонильному соединению **50** с образованием аддукта **A**, находящегося в равновесии с диполем **B**, который инициирует нуклеофильное присоединение к азоалкenu **49** с образованием интермедиата **C**. Далее, в зависимости от структуры дикарбонильного соединения, возможно 2 направления реакции: для изатина и подобных ему соединений выгоднее замыкание цикла в интермедиате **C** в конформации **D** путём S_N2 -подобного замещения с получением спирооксиндол-пиразолина **51**. В другом варианте, например, при использовании производных бензоилформиата, внутримолекулярное присоединение аниона атома азота к сложноэфирной группе позволяет получить соль **E**. Затем из **E** посредством E2-элиминирования получается пиразолон **52** с отщеплением молекулы этанола и оксида фосфина [201].

Bhat и соавторы опубликовали [202] метод диастереоселективного (3+2)-циклоприсоединения с использованием аллил-изатинкарбоната **52** и пиразолон-кетимина **53** приводящий к диспироиндолинон-дигидропиррол-пиразолонам **54** (Рисунок 2.50). Реакцию проводили в хлороформе при комнатной температуре с добавлением 20% (мол.) DMAP, продукты получали с высоким выходом и диастереоселективностью.

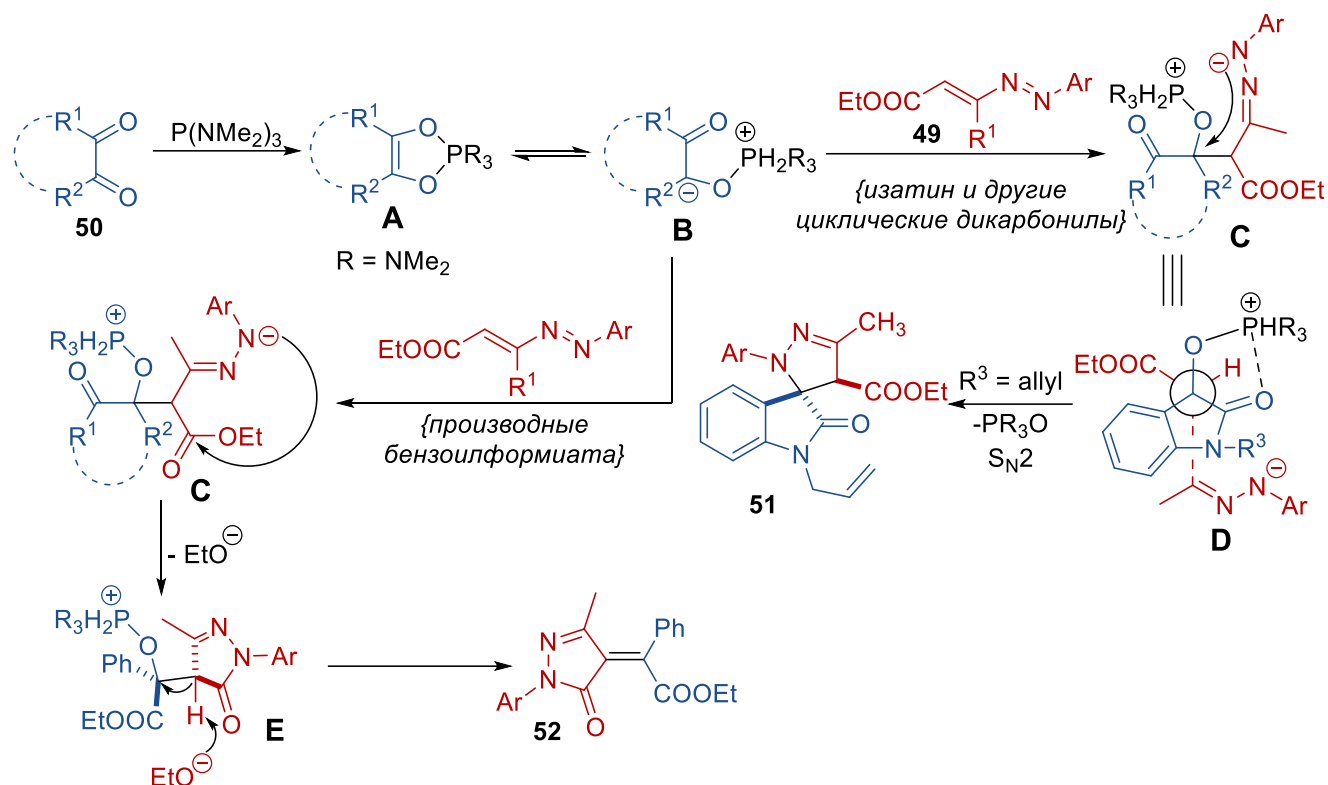


Рисунок 2.49. Предполагаемый механизм протекания реакции между азо-алкеном и дикарбонильным соединением

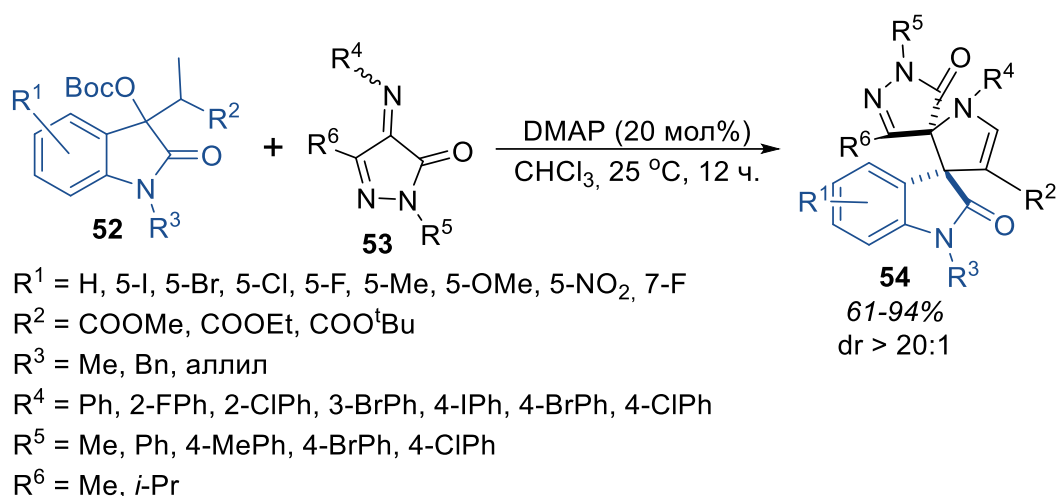


Рисунок 2.50. Получение диспироиндолин-дигидропиррол-пиразолонов в присутствии DMAP

Механизм реакции (Рисунок 2.51), предложенный авторами, заключается в первоначальной атаке атомом азота DMAP по изатинкарбонату **52** с образованием четвертичной аммониевой соли **I**. Далее *in situ* генерируется основание Бренстеда (*трет*-бутилат анион), которое отщепляет протон от молекулы интермедиата **I**, образуя азометинилид **II**. Этот илид реагирует с пиразолон-кетиминем **53** по γ -положению с получением интермедиата **III**, внутримолекулярная циклизация которого приводит к образованию спирооксиндола **54**, регенерируя при этом исходную молекулу DMAP.

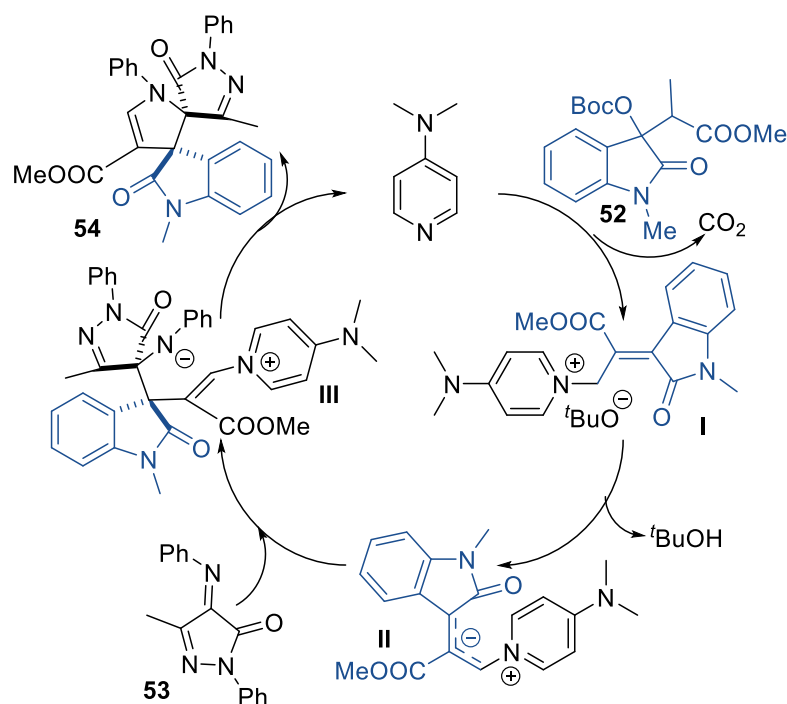


Рисунок 2.51. Предполагаемый каталитический цикл (3+2)-циклоприсоединения аллил-изатинкарбоната к пиразолон-кетимину

Barakat и соавторы в 2021 году [203] стереоселективно получили спироиндолин-имидазо[2,1-b]тиазол **58** исходя из арилиден-замещённого имидазо[2,1-b]тиазола **55**, 6-хлоризатина **56** и хиральной карбоновой кислоты **57** (Рисунок 2.52). Авторы отмечают, что высокополярная жёсткая структура молекулы может быть использована как удобный структурный мотив для разработки новых биологически активных соединений.

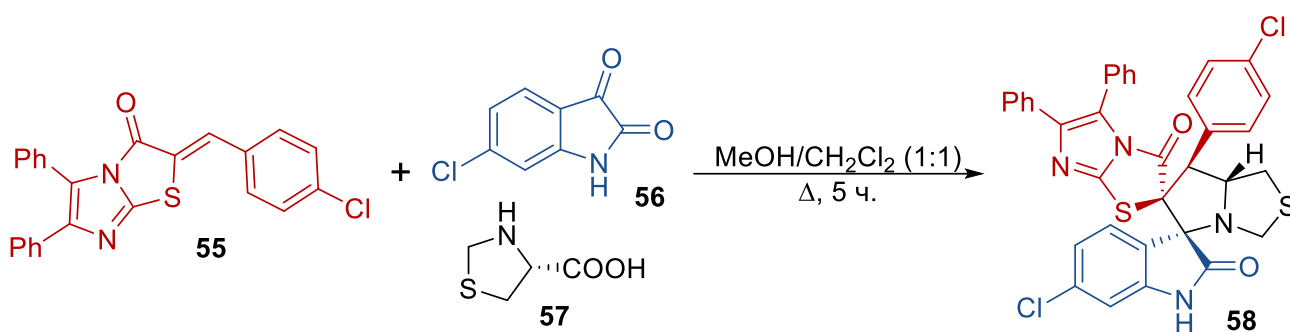


Рисунок 2.52. Стереоселективное получение спирооксиндола на основе имидазо[2,1-b]тиазола

Научная группа Газиевой получила [204] серию диспироиндолин-пирролидин-тиазолидинов **61** с помощью 1,3-диполярного присоединения азометинилидов к 5-арилиденпроизводным тиазолидинов **60** (Рисунок 2.53). Реакции проводили при кипячении в ацетонитриле, в ходе реакции наблюдали региоселективное образование единственного диастереомера продукта; часть синтезированных соединений проявили значимый антипролиферативный эффект на различных клеточных линиях.

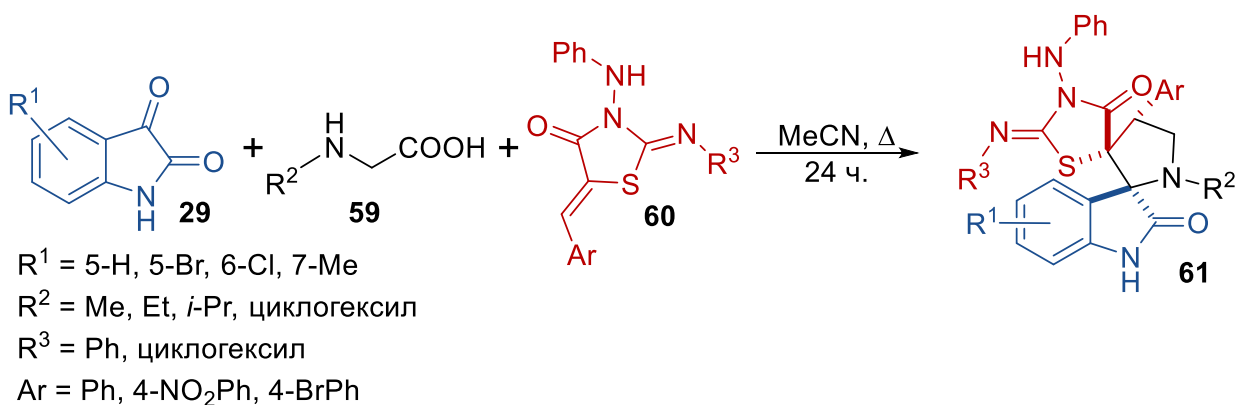


Рисунок 2.53. Диастереоселективное получение диспироиндолин-пирролидин-тиазолидинов

Maniam и коллеги в 2022 году [205] предложили способ одностадийного регио- и стереоселективного получения бис-спирооксиндолов **63** с использованием микроволнового облучения посредством трёхкомпонентной реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения (Рисунок 2.54). Азотинилид, образующийся *in situ* из изатина **19** и L-пролина **20**, вступал в реакцию с (E)-3-(2-оксо-2-фенилэтилиден)индолин-2-оном **62** в качестве диполярофила. Полученные бис-спирооксиндолы продемонстрировали в исследованиях *in vitro* отличную антиамилоидную активность, низкую общую токсичность, а также способность преодолевать гематоэнцефалический барьер, что позволяет рассматривать подобные соединения в качестве терапевтических кандидатов для лечения болезни Альцгеймера.

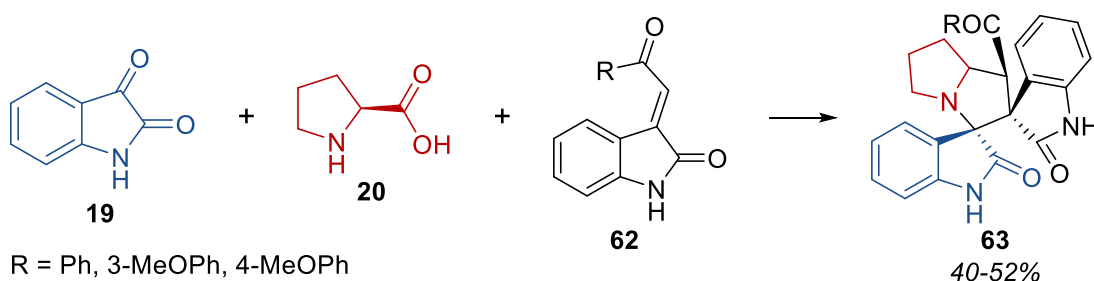


Рисунок 2.54. Регио- и стереоселективное получение диспироиндолин-пирролидин-индолинонов

Chaudhary и коллеги в 2023 году [206] синтезировали новый ряд спиро[пирролидин-2,3'-оксиндол]ов на основе нитростирола с помощью хемо- и региоселективной реакции (3+2)-циклоприсоединения, в которой под воздействием микроволнового излучения вступали в реакцию замещённые изатины **29**, различные α -аминокислоты **64** и (E)-2-арил-1-нитроэтилены **65** (Рисунок 2.55). Стереохимия конечных соединений **66** была дополнительно подтверждена с помощью рентгеноструктурного анализа, а в исследованиях *in vitro* нитростирола, замещённые различными донорными группами (OMe-/Me-/ 2,4-(OMe)₂ и т.д) проявили наибольшую цитотоксичность на клеточных линиях рака лёгкого A549 и рака печени HepG2.

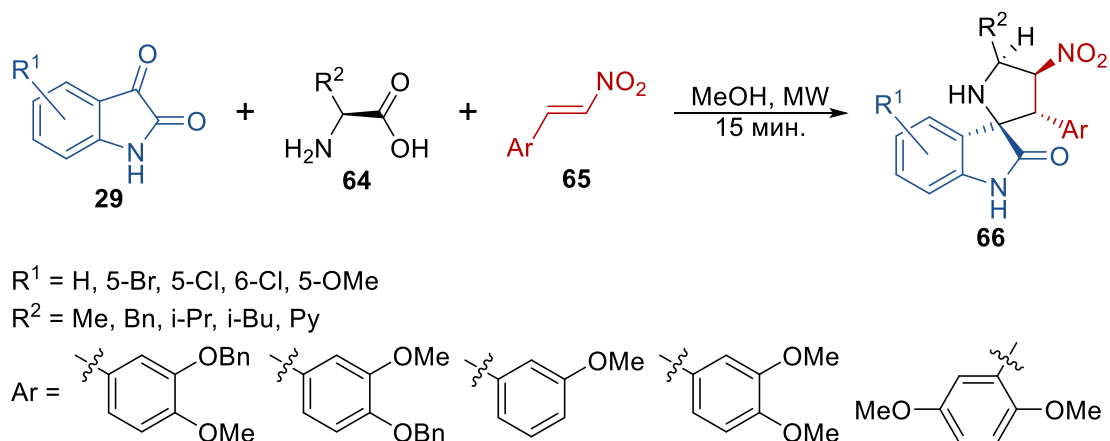


Рисунок 2.55. Получение спирооксидолов на основе нитростирола с помощью микроволнового облучения

Предполагаемый механизм региоселективного циклоприсоединения азометинида к производному нитростирола изображён на Рисунке 2.56.

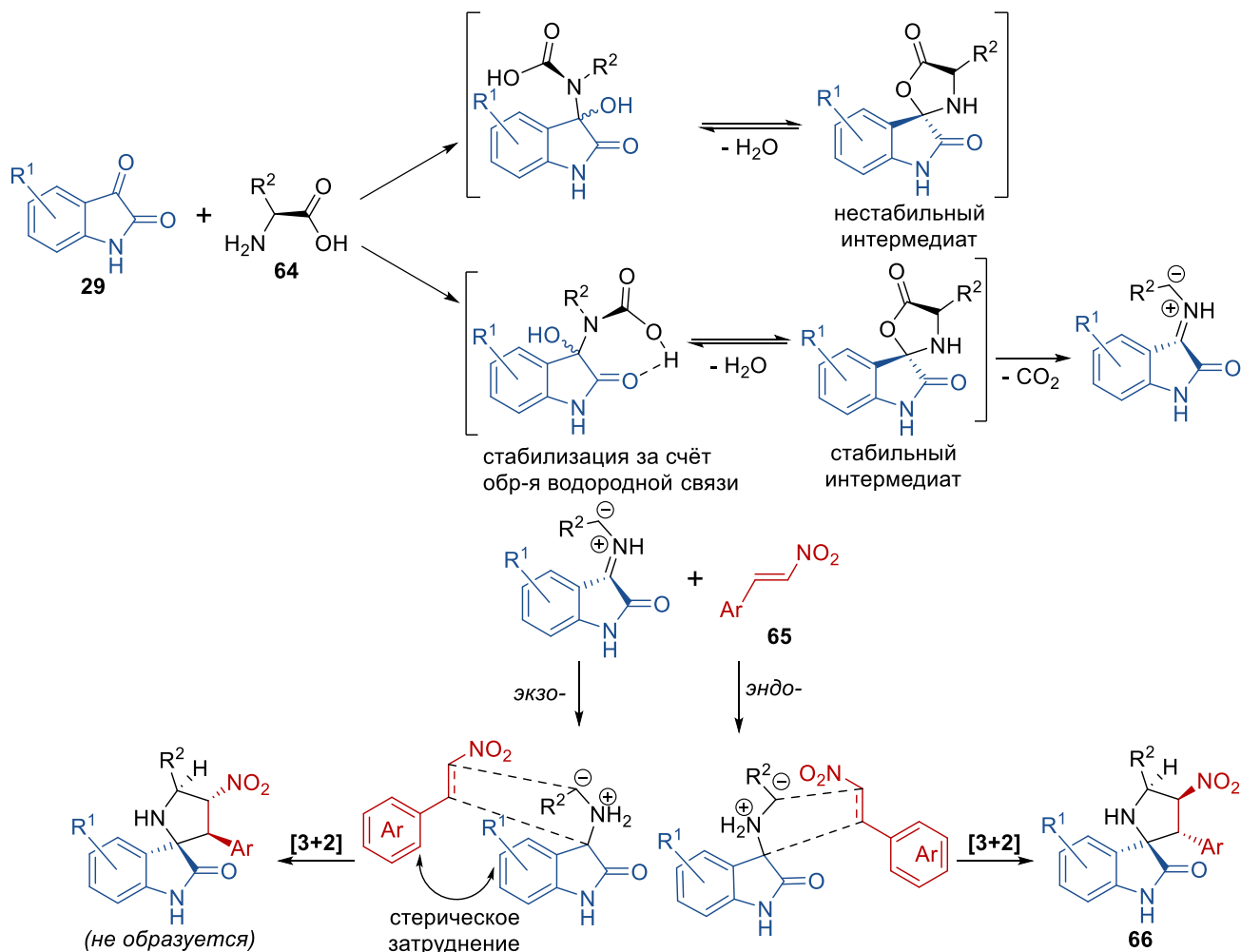


Рисунок 2.56. Предполагаемый механизм получения спирооксидола на основе нитростирола

На первой стадии из бром-изатина **29** и хиральной аминокислоты **64** образуется только один изомер азометинида, энантиоселективность в данном случае определяется

стабилизацией одного из интермедиатов за счёт образования водородной связи карбонильной группы во 2-м положении изатина и карбоксильной группой аминокислоты. В результате полученный азометинилид способен присоединяться к двойной группе нитростирола **65** с образованием двух возможных продуктов (*экзо*- и *эндо*-аддукты), однако образование *экзо*-производного не наблюдается из-за стерических затруднений, возникающих за счёт сближения ароматического кольца производного нитростирола с изатином.

Измestьев и соавторы в 2023 году [207] опубликовали работу, посвящённую получению диспиро-имидазотиазолотриазин-пирролидин-оксиндолов в виде смеси диастереомеров **70a** и **70b** (Рисунок 2.57) с помощью реакции (3+2)-циклоприсоединения азометинилида, получаемого *in situ* из параформа **68** и N-замещённых аминокислот **69**, к производным оксиндолиденов **67**. В работе было показано, что соотношение *син*- и *анти*-изомеров зависит от размера заместителя при атоме азота в аминокислоте **69**, а диастереомеры **70a** и **70b** удаётся отделить друг от друга с помощью дробной перекристаллизации, их структуру удалось подтвердить с помощью РСА.

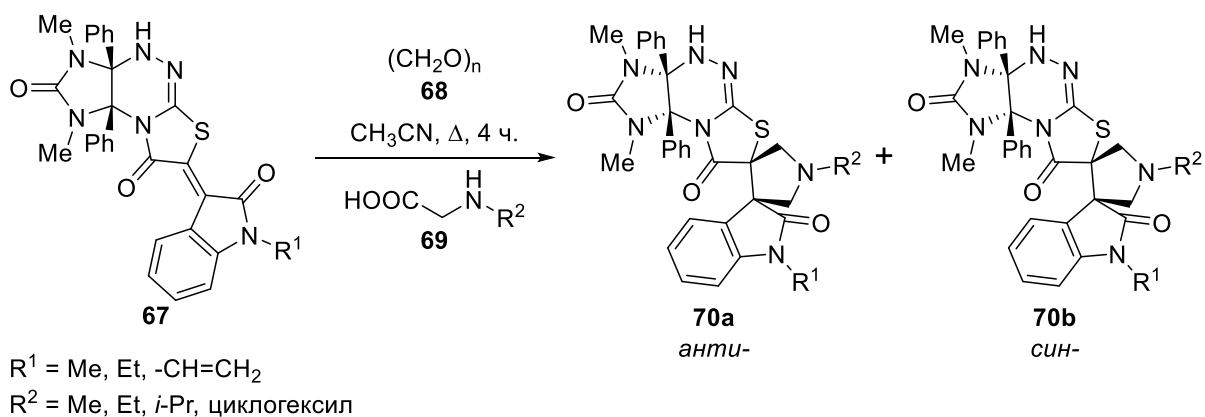
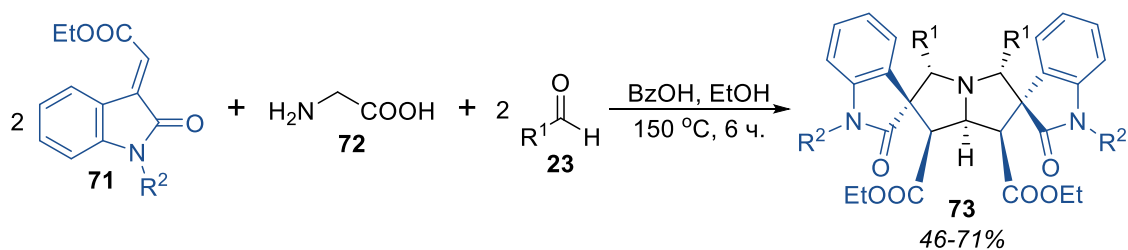


Рисунок 2.57. Получение диастереомеров диспиро-имидазотиазолотриазин-пирролидин-оксиндолов реакцией (3+2)-циклоприсоединения

В 2023 году Yao и коллеги разработали [208] высокоэффективный диастереоселективный метод синтеза симметричных производных диспиро-пирролизин-индолинонов **74** с помощью пятикомпонентного каскадного процесса (Рисунок 2.58). В реакцию вступает два эквивалента оксиндола **71**, глицин **72** и два эквивалента альдегида **23**, которые образуют конечный продукт **73**, имеющий в своей структуре 7 стереоцентров, путём двух последовательных реакций (3+2)-циклоприсоединения. В качестве катализатора процесса использовали кислоту Брёнстеда, а основными преимуществами метода являются высокая диастереоселективность, атом-экономичность и экологичность процесса — растворителем выступает этанола, а в качестве побочных продуктов образуются только углекислый газ и вода.

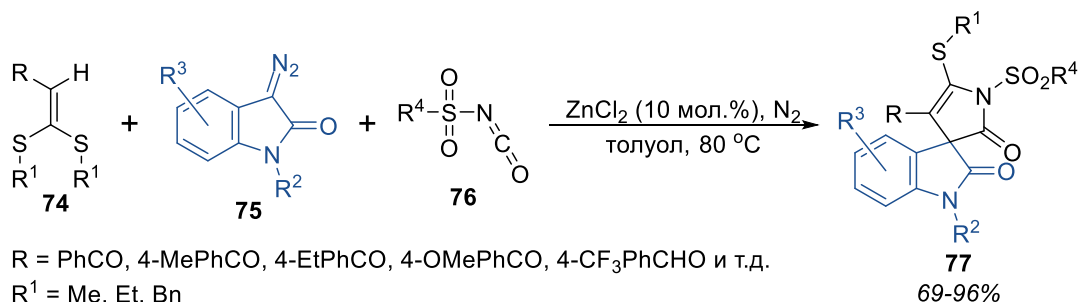


$\text{R}^1 = \text{Ph, 4-ClPh, 4-BrPh, 4-CNPh, 4-AcNHPh, 3,5-Cl}_2\text{Ph}$ и т.д.

$\text{R}^2 = \text{H, Me, Et, Bn}$

Рисунок 2.58. Получение симметричного диспиропроизводного с помощью двух последовательных реакций (3+2)-циклоприсоединения

Zhou и соавторы [209] разработали Zn^{II} -катализируемую реакцию [2+2+1]-аннелирования, которая приводит к получению полизамещённых спироиндолинонов **77** (Рисунок 2.59). В реакцию вступает производное дитиоацетала **74**, 3-дiazozамещённый изатин **75** и изоцианат **76**, а механизм реакции включает в себя [4+1]-аннелирование с образованием спироциклического интермедиата, который, выступая в качестве 1,3-диполя, реагирует с двойной связью, образуя продукт **77** с отличным выходом.



$\text{R} = \text{PhCO, 4-MePhCO, 4-EtPhCO, 4-OMePhCO, 4-CF}_3\text{PhCHO}$ и т.д.

$\text{R}^1 = \text{Me, Et, Bn}$

$\text{R}^2 = \text{Me, Bn, } i\text{-Pr, аллил, пропаргил}$

$\text{R}^3 = \text{H, 4-Me, 5-Me, 5-OMe, 5-F, 5-Cl, 5-Br, 6-F}$ и т.д.

$\text{R}^4 = \text{Ph, 4-FPh, 4-ClPh, 4-BrPh, 3-ClPh}$ и т.д.

Рисунок 2.59. Получение спирооксиндола с помощью цинк-катализируемого [2+2+1]-аннелирования

Таким образом, реакции (3+2)-циклоприсоединения к производным оксиндола являются удобным и широко используемым способом получения спиро- и диспироиндолинонов. Варьируя природу вводимого в реакцию 1,3-диполя, можно регио- и стереоселективно получать гетероциклические системы с набором спиро-сочленённых гетероциклов различного типа.

2.4. Заключение

Анализ литературных данных позволяет сделать вывод, что стратегия PROTAC является перспективным и быстро развивающимся методом получения новых биологически активных соединений для терапии опухолевых заболеваний. Использование подхода гомо-PROTAC в применении к низкомолекулярным ингибиторам белка MDM2 может привести к значительному увеличению их биологической активности.

Для создания новых молекул PROTAC представляется наиболее целесообразным использовать лиганды белка CRBN, поскольку они имеют сравнительно простую структуру, а, значит, являются доступными соединениями, и к настоящему времени имеются примеры разработанных молекул PROTAC, подтверждающие их биологическое действие. В качестве наиболее перспективных лигандов CRBN стоит выделить соединения, содержащие фрагменты глутаримида, фталимида или их аналоги.

Для получения спиро-и диспироиндолинонов различных структурных типов наиболее удобным синтетическим методом можно считать реакции (3+2)-циклоприсоединения азометинилидов и других 1,3-диполей к диполярофилам ряда индолинонов. Такие реакции обычно протекают хемо-, регио- и диастереселективно с хорошим выходом целевых соединений.

3. Обсуждение результатов²

Гетероциклические соединения, содержащие в своей структуре один или несколько спиро-сочленённых фрагментов, часто проявляют высокую биологическую активность, связанную с жёстко зафиксированным расположением в пространстве экзоциклических заместителей, необходимых для взаимодействия с биологическими мишенями [204,210].

Известно, что более, чем в половине раковых клеток наблюдается гиперэкспрессия белка MDM2, который связывает опухолевый супрессор — белок p53, не давая ему регулировать клеточный цикл и, как следствие, запускать апоптоз повреждённых клеток [211,212]. Как было отмечено ранее в обзоре литературы, белок MDM2 является E3-убиквитинлигазой и способен подавлять активность белка p53 тремя различными путями: полиубиквитинированием p53 с последующей его протеасомной деградацией, моноубиквитинированием для извлечения p53 из ядра или прямым связыванием p53 в прочный белок-белковый комплекс с блокированием его основных функций [213]. Это делает возможным лечение онкологических заболеваний путём подавления активности MDM2 в результате его конкурентного ингибирования низкомолекулярными веществами, имитирующими ключевые сайты белка p53, необходимые для связывания. Высвобождение белка p53 из комплекса с MDM2 активирует сигнальные пути для запуска апоптоза [214].

Наиболее важными участками для связывания p53 с MDM2 являются аминокислотные остатки Phe19, Trp23 и Leu26, которые встраиваются в гидрофобную область MDM2 [215,216] (Рисунок 3.1, а). Ранее нашей научной группой была получена серия диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов, общая структура которых показана на Рисунке 3.1, б. Эти соединения показали высокую цитотоксическую активность при тестировании на клеточных линиях человеческой гепатоцеллюлярной карциномы HepG2, рака предстательной железы PC3 и LNCaP, аденокарциномы легких A549, карциномы толстой кишки HCT116 и рака молочной железы MCF-7 [175–178,217,218]. По результатам молекулярного докинга диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов [179], фрагмент индолинона имитирует аминокислотный остаток Trp23, N(1')-Me фрагмент пирролидинового цикла — Leu26, углеводородный заместитель при атоме N(1) имидазолидинового цикла — Phe19 (Рисунок 3.1, б), а арильный заместитель в 4'-положении пирролидинового кольца отвечает за π -стэкинг. Для того, чтобы целевые конъюгаты сохраняли способность связываться с MDM2, необходимо наличие в их составе N-незамещённого изатинового фрагмента.

² В обсуждении результатов нумерация соединений и рисунков не совпадает с нумерацией в обзоре литературы

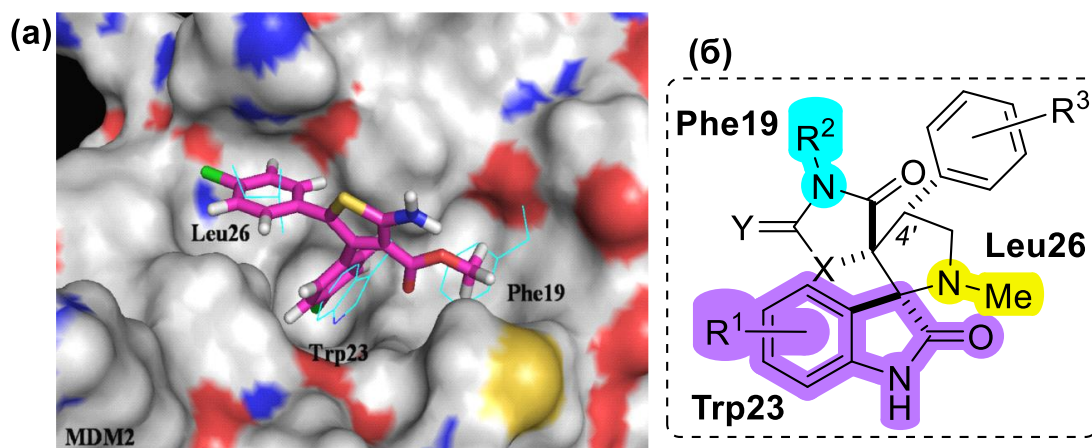


Рисунок 3.1. а) Ключевые аминокислотные остатки, ответственные за связывание p53 с MDM2; б) общая структура диспиропроизводного, в котором цветом выделены фрагменты, имитирующие аминокислотные остатки Phe19, Trp23 и Leu26

В настоящее время известен ряд низкомолекулярных ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2. Однако все они обладают значительными побочными эффектами, что ставит задачу снижения эффективной дозы. Одной из возможностей для этого является использование методологии PROTAC. В разделе 2.2.1.9 обзора литературы был представлен препарат **КТ-253** (Рисунок 3.2, б), используемый для выборочного протеолиза белка MDM2. В качестве структурного фрагмента — лиганда MDM2 в этой молекуле был выбран фрагмент диспироиндолинона, что подтверждает потенциал использования соединений подобного типа для селективной деградации MDM2 и высвобождения белка p53 [120]. Соединения, содержащие фрагмент диспироиндолинона, эффективно связываются с MDM2, что было показано в предыдущих работах нашей научной группы [175–179].

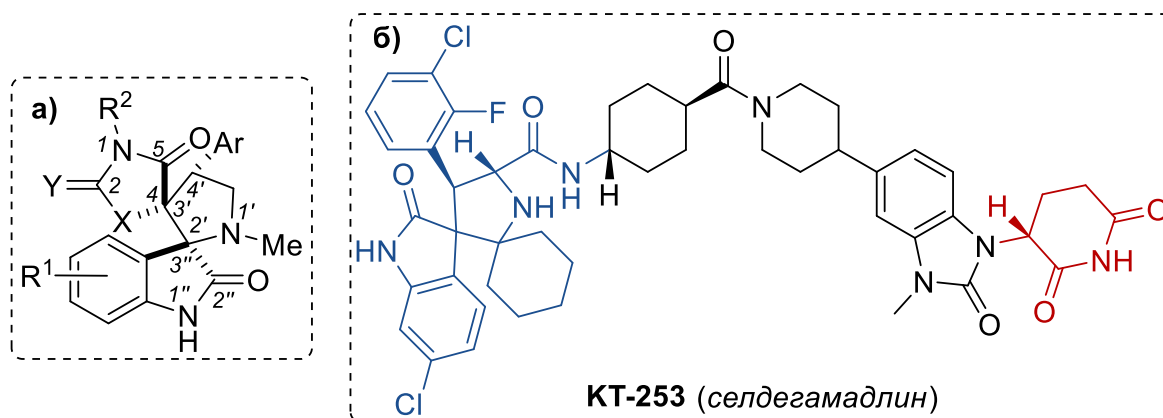


Рисунок 3.2. а) Общая структура диспиропроизводных, полученных в предыдущих работах научной группы (цифрами здесь и на последующих рисунках указана нумерация атомов в спиро-циклах); б) структура препарата **КТ-253** — молекулы выборочного протеолиза белка MDM2

В данной работе на первом этапе была исследована возможность синтеза симметричных молекул гомо-PROTAC I-IV (Рисунок 3.3), в которых два фрагмента диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинона соединены между собой полиметиленовыми линкерами различной

длины. На втором этапе были получены молекулы гетеро-PROTAC **V-VII**, представляющие собой конъюгаты диспироиндолинонов и производных глутаримида с различными типами линкеров между функциональными фрагментами. На третьем этапе синтетические подходы, разработанные для синтеза соединений типов **VI** и **VII**, были использованы для синтеза несимметричных бис-диспироиндолиноновых конъюгатов **VIII** и **IX** (Рисунок 3.3).

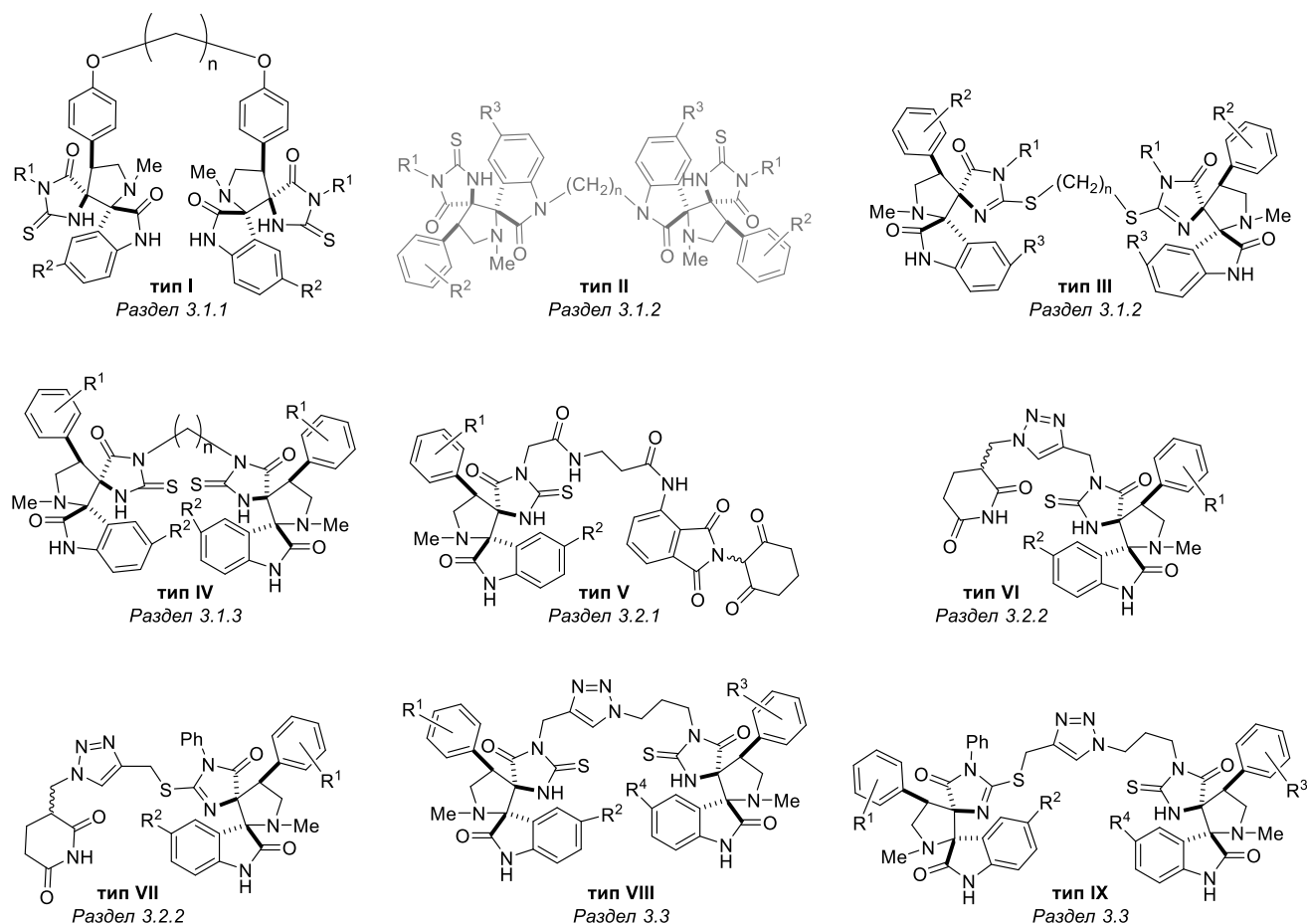


Рисунок 3.3. Структурные типы соединений, синтезируемых в настоящей работе. Серым цветом выделен структурный тип II, не полученный в индивидуальном виде.

3.1. Симметричные молекулы гомо-PROTAC на основе диспироиндолинонов

В качестве линкеров между функциональными фрагментами описанных к настоящему времени молекул PROTAC чаще всего использовали гибкие полиметиленовые или амид-содержащие линкеры (см. обзор литературы). Два фрагмента диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинона потенциально могут быть соединены между собой полиметиленовыми линкерами четырьмя альтернативными способами, удобными для проведения синтеза (Рисунок 3.4). Первый способ заключается в соединении через арильные заместители центрального пирролидинового цикла спиро-сочленённой системы. Для этого можно использовать реакции алкилирования доступных фенокси-замещённых производных. Второй способ представляет собой соединение фрагментов диспиропроизводных через атомы азота индолинонового

фрагмента, третий — через атомы серы 2-тиогидантоинового цикла, четвёртый — через атом азота N(1) 2-тиогидантоинового цикла. Однако стоит отметить, что из-за достаточно высокой кислотности NH-групп тиогидантоинового и оксиндольного фрагментов (pK_a (DMSO) 13.3 и 18.5, соответственно [219]) и амбидентного характера тиогидантоин-аниона, прямое алкилирование диспироиндолинонов в основных условиях может приводить к смеси продуктов **типов II, III и IV**.

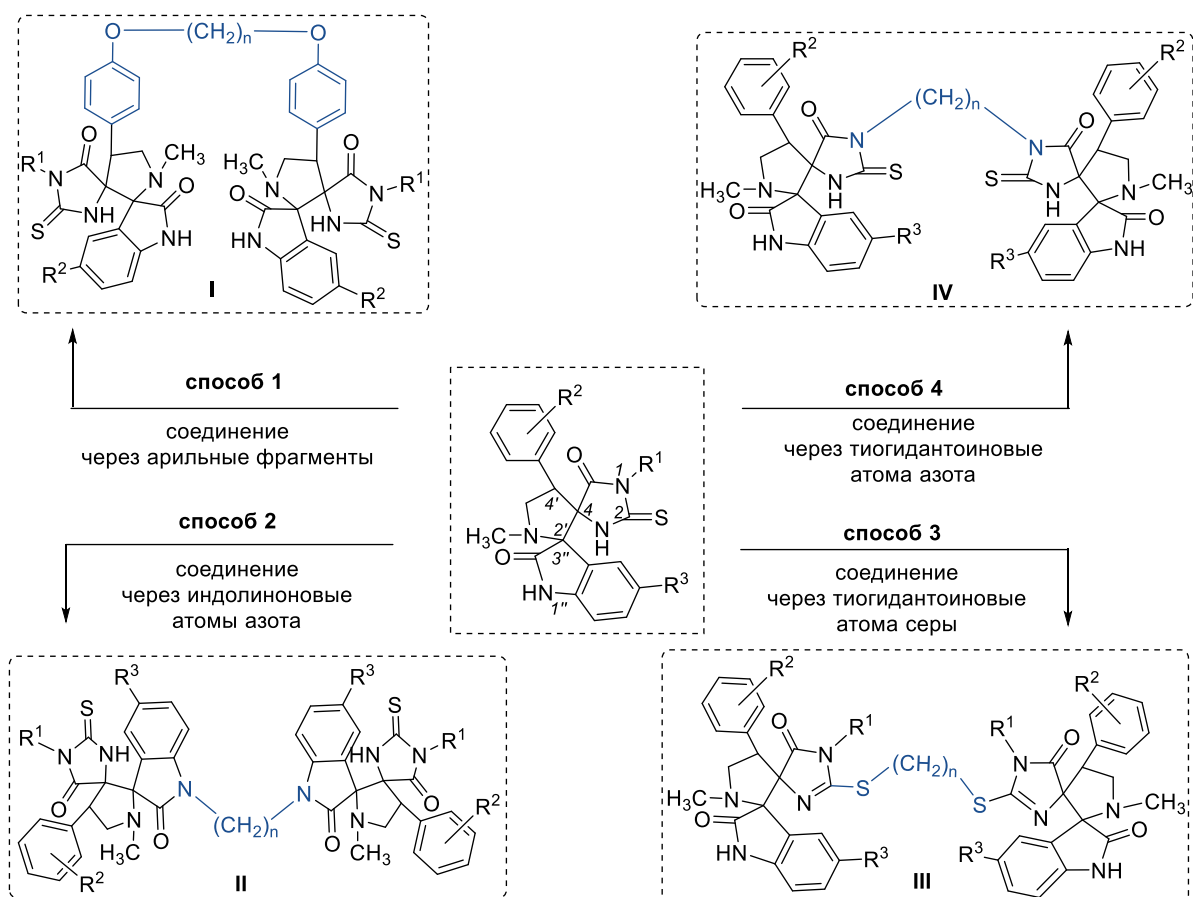


Рисунок 3.4. Возможные способы соединения двух диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиновых фрагментов полиметиленовыми линкерами

Принимая во внимание результаты молекулярного докинга (Рисунок 3.1), соединения **типа II** представляются наименее перспективными с точки зрения биологической активности, поскольку наличие $-NH-C(O)-$ фрагмента изатина важно для связывания с MDM2. Однако по данным литературного обзора, для молекул PROTAC прочное связывание с целевым белком менее важно, чем для соединений-ингибиторов, поскольку задачей PROTAC-молекул является лишь временное сближение белка-мишени и E3-убиквитинлигазы. Поэтому возможность получения бис-диспиропроизводных **типа II** также была исследована в данной работе.

3.1.1. Синтез бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов структурного типа I³

Соединение двух фрагментов диспироиндолинона полиметиленовыми линкерами различной длины через арильные заместители центрального пирролидинового фрагмента было осуществлено с использованием трёхстадийной синтетической последовательности, показанной на Рисунке 3.5:

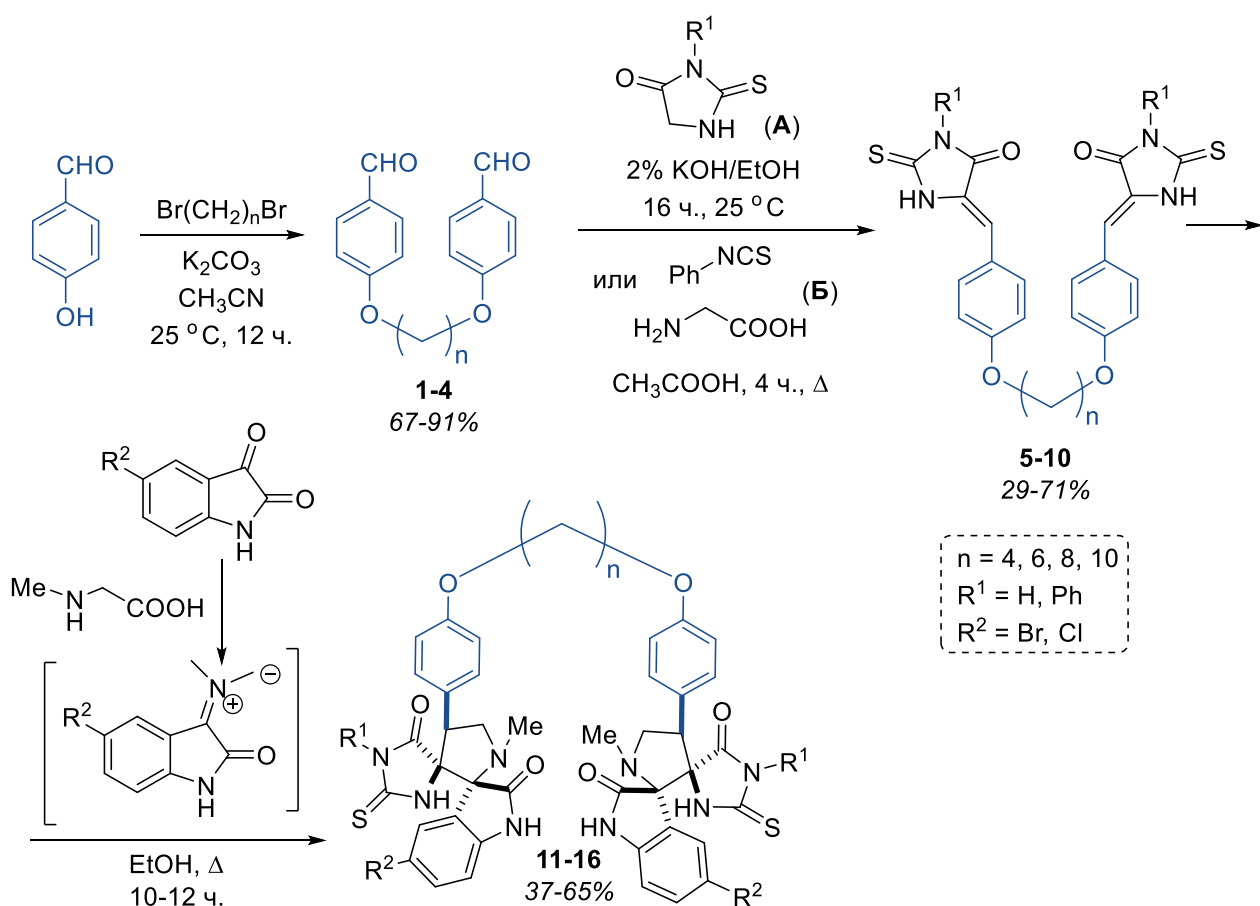


Рисунок 3.5. Общая схема получения бис-диспиро-имидазолон-пирролидин-индолинонов типа I

Бис-альдегиды **1-4** были получены по известной методике [220] с небольшими модификациями: 4-гидроксибензальдегид вводили в реакцию нуклеофильного замещения с α,ω -дибромалканами (4-10 атомов углерода в полиметиленовом линкере) в ацетонитриле в

³ При подготовке данного раздела диссертации использована следующая публикация, выполненная автором в соавторстве, в которой, согласно Положению о присуждении учёных степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования: **В. С. Поляков**, Е. В. Первакова, Н. В. Зык, Е. К. Белоглазкина. Синтез бис(диспиро[индолинон-пирролидин-имидазолонов]) // *Известия Академии наук. Серия химическая*. — 2025. — Т. 74. — № 7. — С. 2092–2101. EDN: FUGALG. Импорт-фактор 1,008 (РИНЦ). [Polyakov V.S., Pervakova E. V, Zyk N. V, Beloglazkina E.K. Synthesis of bis(dispiro[indolinone-pyrrolidine-imidazolones]) // *Russian Chemical Bulletin*. – 2025. – V. 74. – PP. 2092-2101. EDN: HJJOGL]. Объём 1,0 п.л.

присутствии карбоната калия (Рисунок 3.5). По окончании реакции продукт очищали с помощью флэш-хроматографии, причём с увеличением длины полиметиленовой цепи линкера наблюдалось увеличение выхода целевых бис-альдегидов, что может быть связано с уменьшением стерических затруднений S_N2 -реакции в ходе замещения второго атома брома феноксид-анионом. 1H ЯМР спектры полученных соединений согласуются с литературными и содержат характерные триплеты групп $-OCH_2-$ в области $\delta_H \sim 4$ м.д., синглеты альдегидных протонов при $\delta_H \sim 9.8$ м.д. и сигналы пара-замещённой ароматической системы.

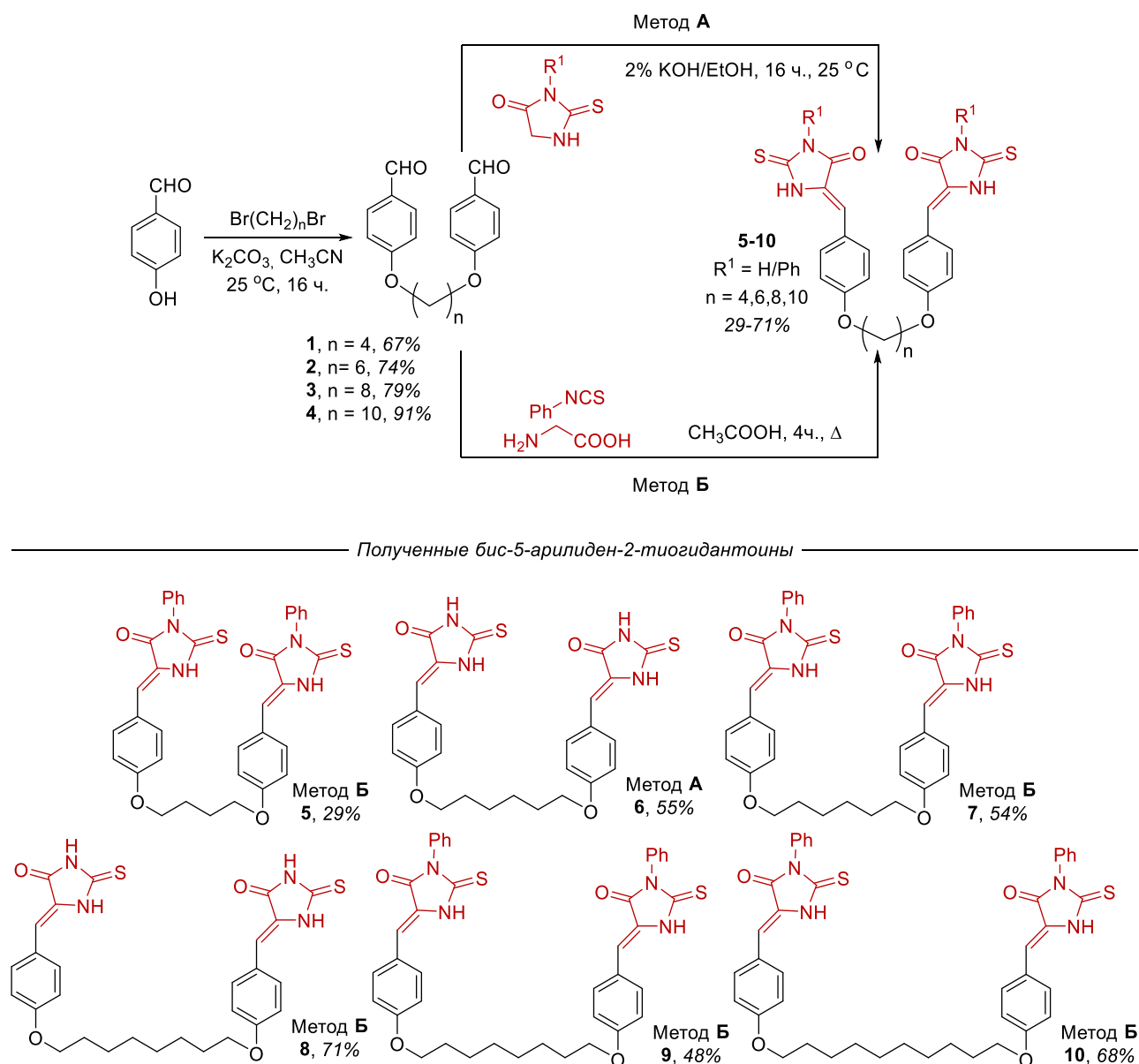


Рисунок 3.6. Синтез 5-арилиден-2-тиогидантоинов **5-10** двумя различными методами

Далее по двум альтернативным методикам **А** или **Б** были получены 5-арилиден-2-тиогидантоины **5-10**. По методу **А** (Рисунок 3.6) бис-альдегиды **1-4** вводили в реакцию Кнёвенагеля с 2-тиогидантоином в 2% спиртовом растворе КОН. При использовании реакции **Б**, предполагаемый механизм которой представлен на Рисунке 3.7 [221], исходные альдегиды **1-4**

вводили в трёхкомпонентную реакцию с фенилизотиоцианатом и глицином с промежуточным образованием *in situ* 3-фенил-2-тиогидантоина, который далее вступал в реакцию конденсации с бис-бензальдегидом по обеим карбонильным группам с образованием соединений **5-10**. Выбор методики зависел от заместителя при атоме N(3) имидазолидинового цикла: по методу **A** получали NH-производные, а по методу **B** — N-Ph производные.

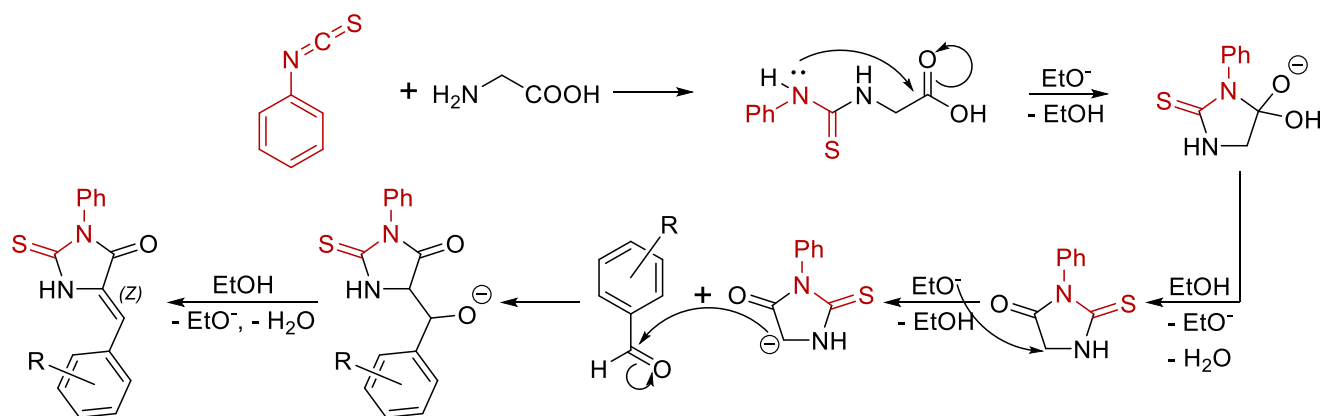


Рисунок 3.7. Предполагаемый механизм образования бис-5-арилиден-2-тиогидантоинов **5-10**

По данным предыдущих исследований научной группы [176,177,179], в ходе получения 5-арилметилдензамещённых 2-тиогидантоинов по вышеописанным методиками получают только (*Z*)-изомеры. Определение конфигурации двойной C=C связи возможно на основании данных ^1H ЯМР-спектроскопии — сигнал винильного протона (*Z*)-изомера находится в области δ_{H} 6.4 – 6.9 м.д., тогда как сигнал (*E*)-изомера в области δ_{H} 5.5-6.0 м.д. [222,223]. ^1H ЯМР спектры соединений **5-10** содержат единственный синглетный сигнал винильного протона при δ_{H} 6.46 – 6.68 м.д. (Рисунок 3.8):

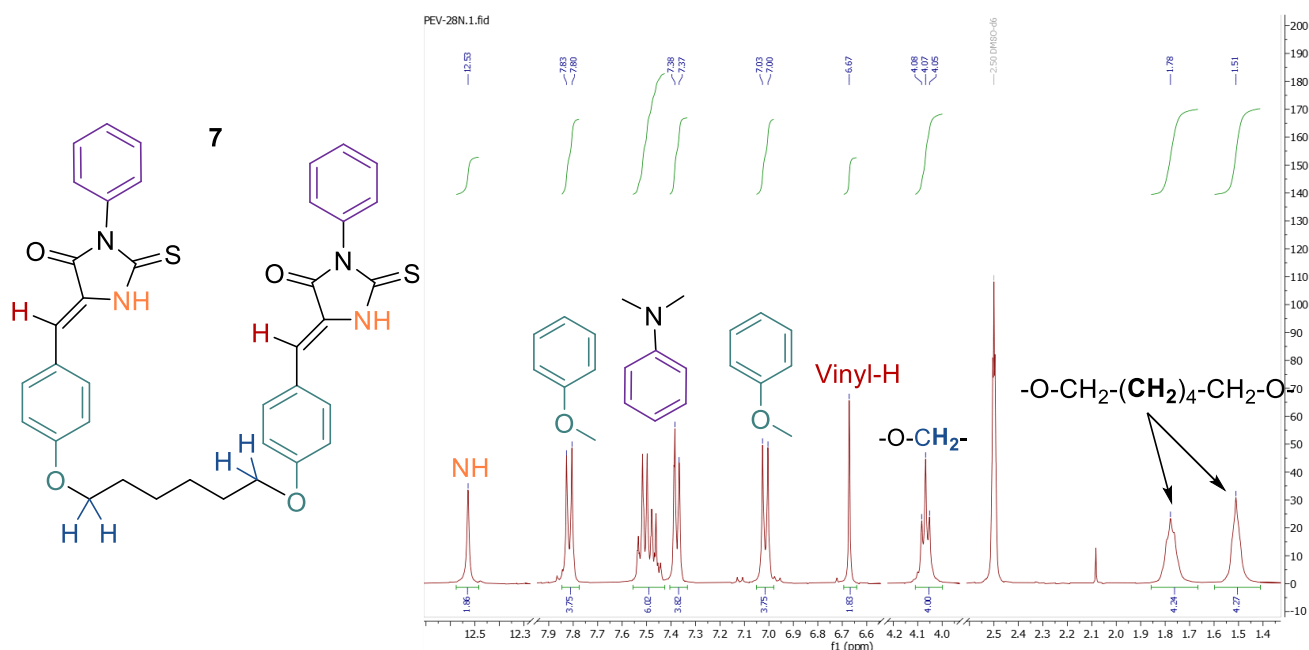
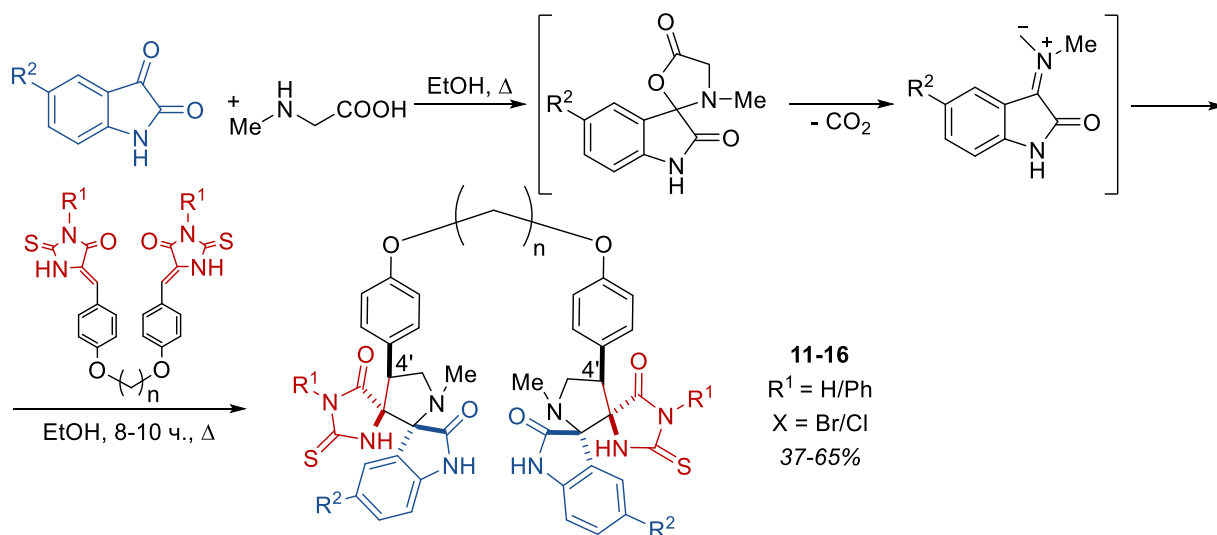


Рисунок 3.8. Фрагмент спектра ^1H ЯМР соединения **7**, цветом выделены характеристичные сигналы

На третьей стадии синтеза полученные арилметиленовые производные 2-тиогидантоинов **5-10** вводили в реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения с двумя эквивалентами азометинида, генерируемого *in situ* из изатина и саркозина по методике, разработанной ранее нашей научной группой: суспензию бис-5-арилметилен-2-тиогидантоина **5-10** (2 экв.) и саркозина (6 экв.) в этаноле нагревали до кипения, после чего порциями добавляли изатин (4 экв.) [175,177,178]. Обычно реакция получения подобных диспироиндолинонов проходит за 4-6 часов, однако для бис-2-тиогидантоинов **5-10** время реакции было увеличено в 2-3 раза (контроль по ТСХ). Реакции циклоприсоединения, по-видимому, протекают в соответствии с механизмом, представленным на Рисунке 2.41 литературного обзора.



Полученные бис-диспирииндолиноны *типа I*

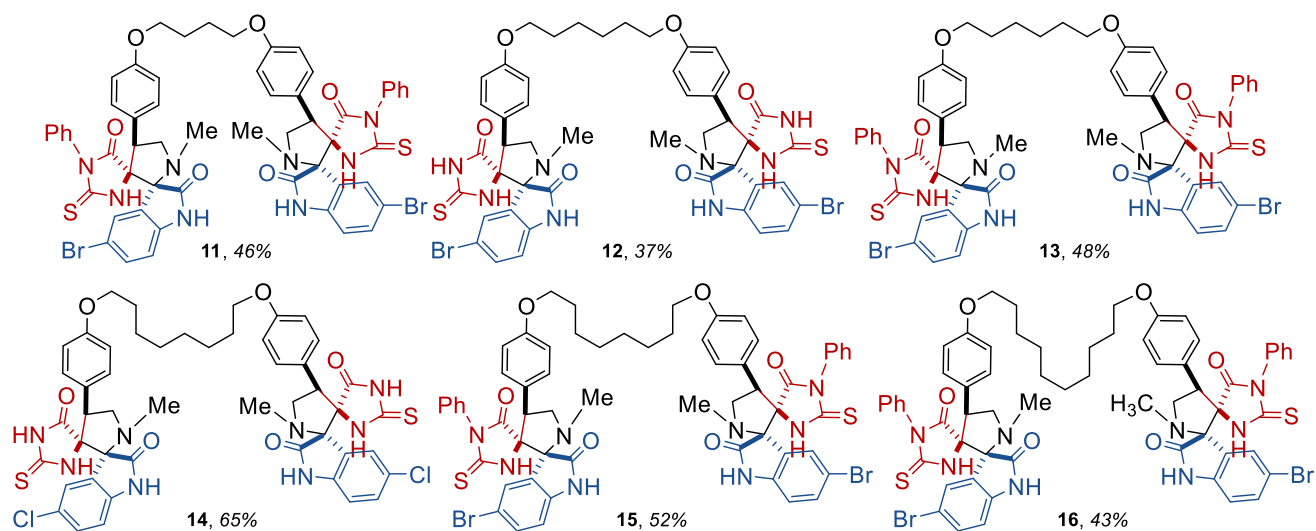


Рисунок 3.9. Синтез бис-диспирииндолинонов **11-16**

Полученные бис-диспирииндолиноны **11-16** (Рисунок 3.9) были охарактеризованы данными спектроскопии ЯМР ¹H и масс-спектрометрии высокого разрешения. В связи с крайне низкой растворимостью данных соединений в органических растворителях, в том числе в ДМСО и ДМФА, зарегистрировать их спектры ЯМР ¹³C не удалось.

В спектрах ЯМР ¹H соединений **11-16** наблюдались характеристичные сигналы трёх протонов пирролидинового цикла в области δ_H 3.3 – 4.2 м.д. в виде псевдо-триплетов с КССВ порядка 7-9 Гц. Также характеристичными являются сигналы двух или трёх (в зависимости от наличия заместителя при атоме N(1) в имидазолиновом фрагменте) NH-протонов в области δ_H 9.5 – 11.0 м.д.

Соединениям **11-16** на основании данных предшествующих исследований нашей научной группы была приписана относительная конфигурация стереоцентров спироциклических фрагментов (2'R*, 4S*, 4'S*). Формирование трёх стереоцентров в ходе

реакции (3+2)-циклоприсоединения к каждой из двух С=C связей бис-5-арилден-2-тиогидантоинов **5-10** происходит диастереоселективно (см. Рисунок 2.41), но, вероятно, независимо друг от друга, что теоретически должно приводить к существованию диастереомеров получающихся соединений **11-16**: *мезо*-формы и рацемата. Однако образование таких продуктов не было обнаружено с помощью ЯМР-спектроскопии реакционных смесей (в них отсутствовал второй набор сигналов), что, по всей видимости, обуславливается большим расстоянием между спироциклическими системами в соединениях **11-16**.

Таким образом, было синтезировано 6 целевых бис-диспироиндолинонов структурного **типа I** (Рисунок 3.9). Возможным недостатком синтезированной группы соединений в качестве биологически активных веществ является сложность варьирования природы арильного заместителя в 4' положении пирролидинового цикла, которая может значительно влиять на биологическую активность соединений. Так, в работе [179] было продемонстрировано, что наличие атома галогена в 4-м положении арильного заместителя пирролидинового цикла диспироиндолинонов существенно повышает их цитотоксичность.

3.1.2. Синтез бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов структурных типов II и III

Соединение двух фрагментов диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов полиметиленовым линкером через атомы азота индолинонового цикла позволяет практически неограниченно варьировать заместители как в 4'-м положении пирролидинового, так и в 3''-положении тиогидантоинового цикла получаемого диспироиндолинона.

Пытаясь получить бис-диспироиндолиноны **типа II** (Рисунок 3.4), мы первоначально получили бис-изатин **17** с тетраметиленовым линкером между атомами азота (Рисунок 3.10) по описанной методике [224,225].

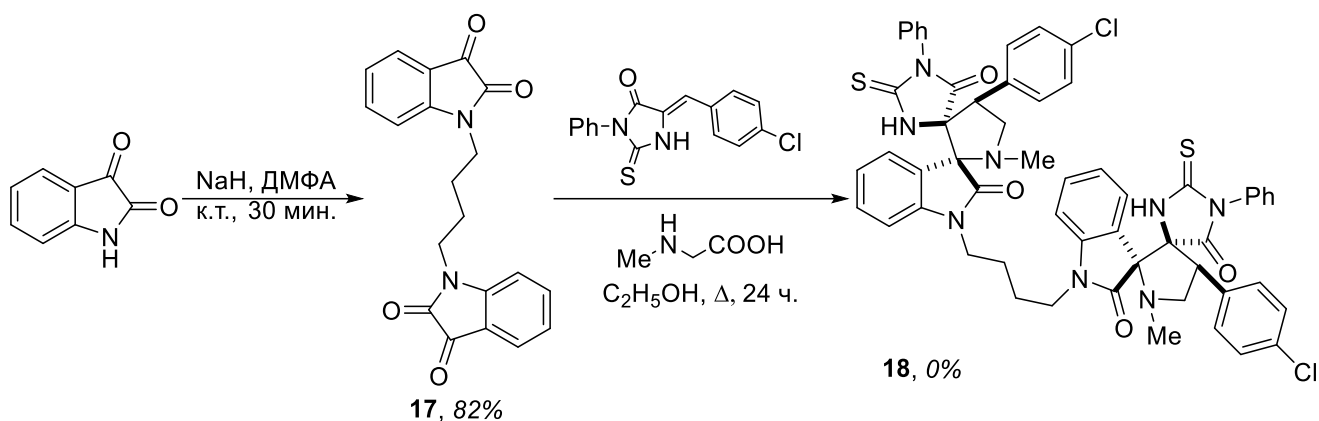


Рисунок 3.10. Получение бис-изатина **17** и попытка синтеза бис-диспириноиндолинона

Полученный бис-изатин **17** далее был введён в реакцию (3+2)-циклоприсоединения с 3-фенил-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиогидантоином и саркозином в стандартных условиях реакции циклоприсоединения азометинилида (кипячение в этаноле в течение 6-8 часов), однако конверсии исходных соединений не происходило (контроль по ТСХ) даже спустя 24 часа кипячения реакционной смеси.

Мы также исследовали возможность получения целевого бис-диспириноиндолинона **18** другим путём — прямым алкилированием диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинона (Рисунок 3.11). Однако проведение подобной реакции осложнялось наличием конкурентного процесса — алкилирования по тиоамидному атому серы имидазолидинового цикла диспириноиндолинона из-за высокой кислотности тиогидантоинового NH-фрагмента.

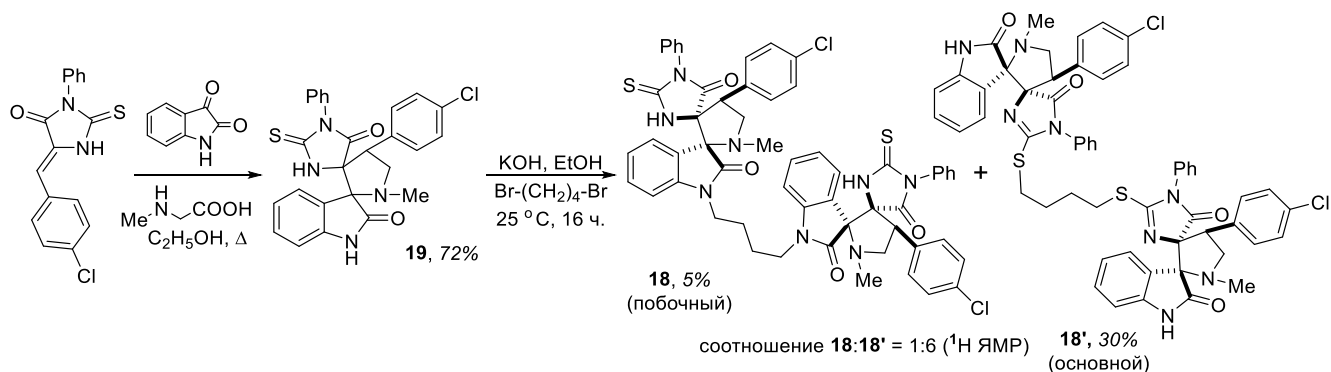


Рисунок 3.11. Альтернативная попытка получения бис-диспириноиндолинона **18** с линкером между атомами азота изатинового фрагмента

Как и следовало ожидать, основным продуктом реакции диспириноиндолинона **19** с 1,4-дибромбутаном в присутствии KOH в этаноле оказался бис-диспириноиндолинон **18'** структурного типа III. В спектре ¹H ЯМР реакционной смеси сигнал протона при атоме азота изатина ($\delta_{\text{H}} = 10.81$ м.д.) не исчезал полностью, как и пик протона при атоме азота имидазолидина ($\delta_{\text{H}} = 10.37$ м.д.). По соотношению сигналов в спектре ¹H ЯМР установили содержание основного продукта **18'** и побочного **18**, которое составило 6:1. Таким образом выделить бис-диспириноиндолинон структурного типа II в индивидуальном виде не удалось.

Бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны структурного **типа III** обладают рядом преимуществ перед соединениями **типов I и II**: во-первых, они сохраняют фрагмент -NHC(O)- индолинона, отвечающий за связывание водородной связью с амидной группой остатка *Leu54* в молекуле белка MDM2 [175], во-вторых, в данных соединениях возможно варьировать как заместитель при атоме азота N(1) тиоимидазолидинового цикла, так и арильный заместитель в 4-м положении пирролидинового цикла.

Для получения бис-диспироиндолинонов структурного **типа III** была предложена четырёхстадийная синтетическая последовательность получения целевых соединений (Рисунок 3.12). Сначала из фенилизотиоцианата **20** и этилового эфира глицина получали производное тиомочевины **21**, которое переводили в 5-арилметилензамещённый 2-тиогидантоин **22** добавлением 4-метоксибензальдегида в 2% спиртовом растворе щёлочи.

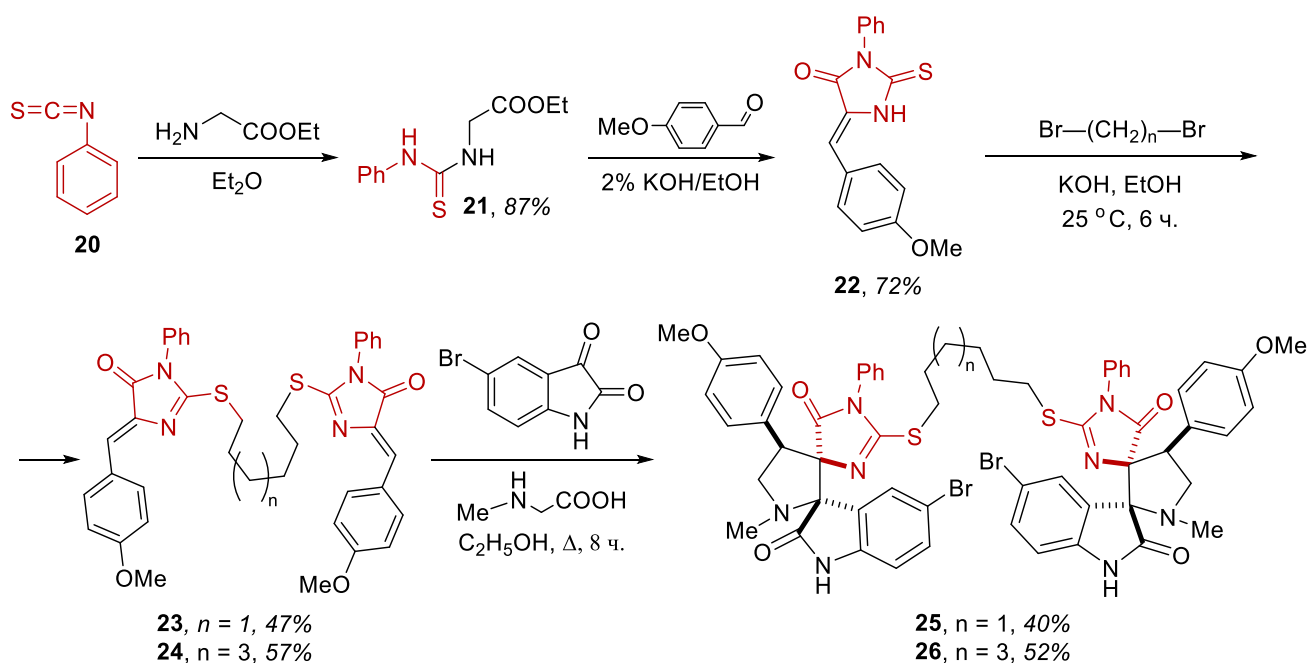


Рисунок 3.12. Синтетическая последовательность получения бис-диспироиндолинонов структурного **типа III**

Далее 5-(4-метоксибензилиден)-2-тиогидантоин **22** подвергался селективному алкилированию 1,6-дибромгексаном или 1,8-дибромоктаном по атому серы в основной среде, что позволило получить с удовлетворительным выходом бис-тиогидантоины **23** и **24**, соответственно. Соединения **23**, **24** вводили в реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения с изатином и саркозином в условиях, аналогичных получению бис-диспироиндолинонов **типа I** (раздел №3.1.1), с получением целевых бис-диспироиндолинонов **25**, **26** структурного **типа III**.

Строение соединений **23-26** было подтверждено с помощью ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии, а также масс-спектрометрии высокого разрешения.

3.1.3. Синтез бис-диспиро-имидазолон-пирролидин-индолинонов структурного типа IV⁴

Соединения структурного типа IV содержат два фрагмента диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинона, соединённые полиметиленовым линкером между атомами азота в 1-м положении имидазолидинового цикла. В предыдущих исследованиях было показано, что наличие заместителя в 1-м положении имидазолидинового цикла диспиропроизводного (Рисунок 3.4) может снижать эффективность связывания ингибитора с молекулой MDM2 [179,226], однако для соединений PROTAC большую роль играет возможность сближения активной части молекулы с целевым белком для запуска убиквитинирования. Также стоит отметить возможность для соединения типа IV варьировать без ограничений арильный заместитель в положении 4' пирролидинового цикла. Целевые соединения были получены трёхстадийным синтезом из доступных предшественников — α,ω -диаминоалканов, этилового эфира изотиоцианатукусной кислоты, бензальдегидов, изатинов и саркозина (Рисунок 3.13).

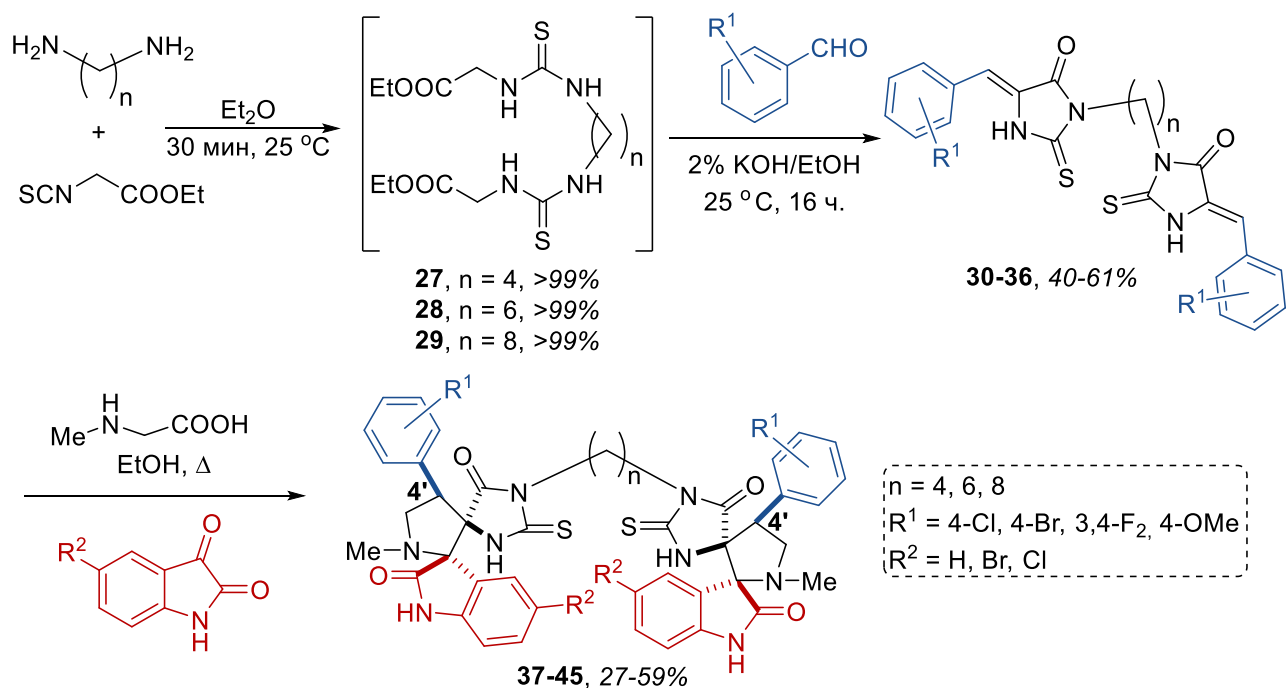


Рисунок 3.13. Общая схема получения бис-диспироиндолинонов структурного типа IV

На первой стадии синтеза α,ω -диаминоалкан, содержащий между аминогруппами цепочки из 4, 6 и 8 атомов углерода, реагировал с двумя эквивалентами изотиоцианатоэтилацетата. Бис-тиомочевины **27-29** получались практически с количественным

⁴ При подготовке данного раздела диссертации использована следующая публикация, выполненная автором в соавторстве, в которой, согласно Положению о присуждении учёных степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования: **Polyakov V.S., Pervakova E.V., Grishin Yu.K., Beloglazkina E.K.** Bis-dispiro-indolinone-pyrrolidine-imidazolones with polymethylene linkers between imidazolone fragments // *Tetrahedron Letters*. – 2025. – V. 162. – P. 155589. EDN: OPIVBG. Импакт-фактор 1,5 (JIF). Объём 0,5 п.л

выходом за 30 минут и использовались после упаривания растворителя без дополнительной очистки. На следующей стадии полученные бис-тиомочевины **27-29** растворяли в 2%-м спиртовом растворе щёлочи и вводили в реакцию Кнёвенагеля с бензальдегидами с получением бис-5-арилметилен-2-тиогидантоинов **30-36** (Таблица 3.1). Очистку каждого из соединений **30-36** сначала пробовали проводить путём перекристаллизации из этанола, в случае низкой растворимости в этаноле использовали ледяную уксусную кислоту, в качестве финального способа очистки — колоночную хроматографию.

Таблица 3.1. Выходы и методы очистки бис-тиогидантоинов **30-36**

Соединение	n	R ¹	Очистка	Выход, %
30	4	4-OMe	Колоночная хроматография ПЭ/ЭА 4:1	40
31	4	4-Cl	Перекристаллизация из CH ₃ COOH	53
32	6	4-Cl	Перекристаллизация из C ₂ H ₅ OH	56
33	6	3,4-F ₂	Колоночная хроматография ПЭ/ЭА 4:1	42
34	8	4-Cl	Перекристаллизация из C ₂ H ₅ OH	61
35	8	4-Br	Перекристаллизация из C ₂ H ₅ OH	53
36	8	4-OCH ₃	Перекристаллизация из CH ₃ COOH	47

Стоит отметить, что соединения **30-36**, как и в случае бис-2-тиогидантоинов **5-10**, образуются в виде единственного геометрического изомера с (*Z*)-конфигурацией C=C связи. Это подтверждается химическими сдвигами сигнала винильного протона: в их спектрах ¹H ЯМР δ_H = 6.5 – 6.7 м.д., что, как было отмечено ранее при описании соединений **5-10**, соответствует (*Z*)-изомерам [176,179].

На заключительной стадии синтеза бис-тиогидантоины **30-36** вводили в реакцию (3+2)-циклоприсоединения с саркозином и изатинами в стандартных условиях с увеличенным до 10-12 ч временем кипячения реакционной смеси. Полученные соединения **37-45** (Рисунок 3.14) выделяли путём добавления избытка холодной воды к реакционной смеси с последующим добавлением насыщенного водного р-ра NaCl. Отфильтрованный твёрдый остаток перекристаллизовывали из этанола, после чего некоторые из полученных соединений дополнительно очищали с помощью колоночной хроматографии.

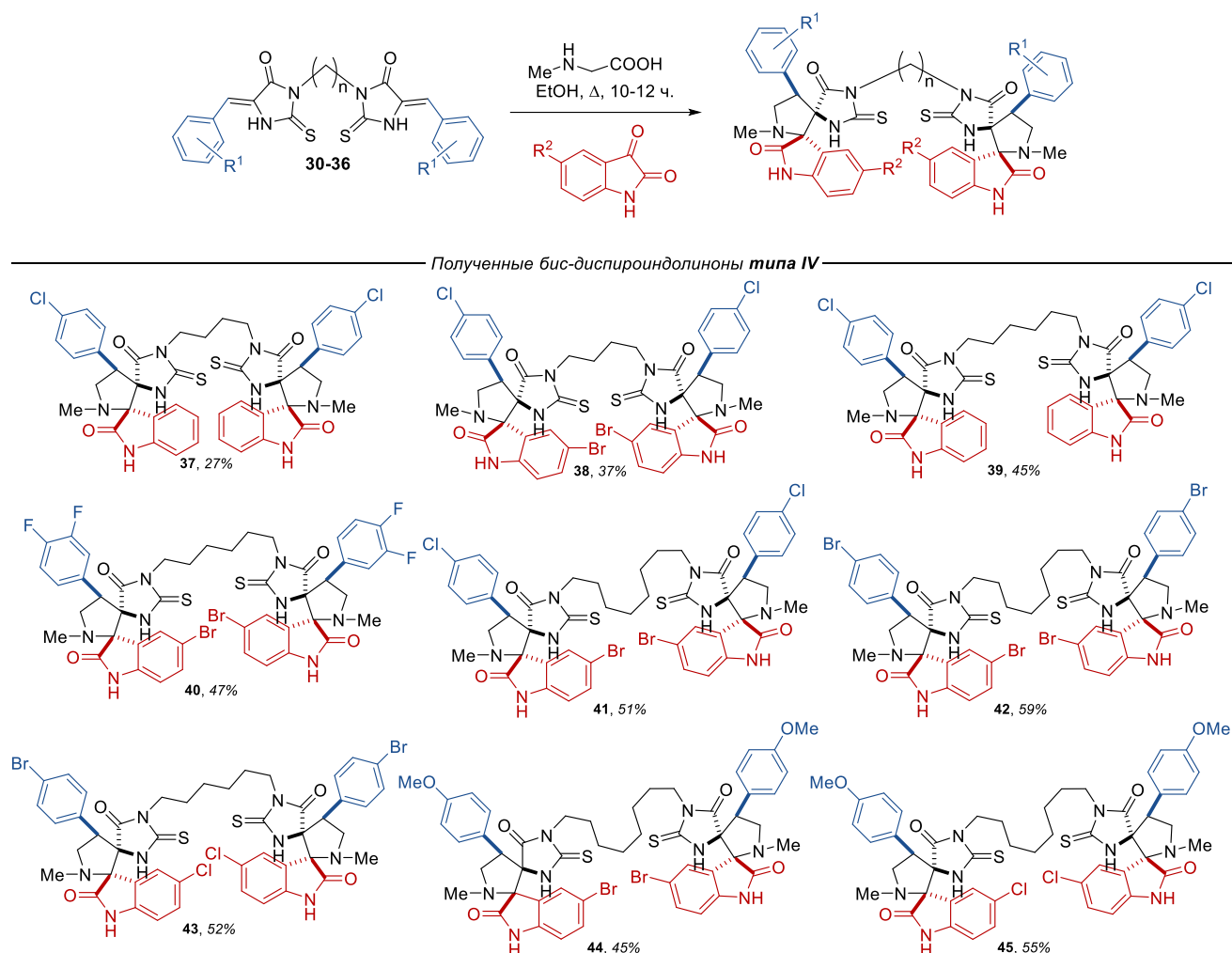


Рисунок 3.14. Получение бис-диспироиндолинов **37-45** типа **IV** реакцией (3+2)-циклоприсоединения

Стоит отметить, что более высокие выходы соединений **39-45** по сравнению с соединениями **37-38** связаны, по всей видимости, с меньшими стерическими затруднениями, возникающими в ходе реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения. С увеличением длины полиметиленового линкера между атомами азота два фрагмента дипольофила находятся на максимальном удалении друг от друга, что позволяет им эффективнее вступать в реакцию с азометинилидом, образующимся из саркозина и изагина. Также на выходы целевых бис-диспироиндолинов влияет и метод очистки — при использовании колоночной хроматографии они снижаются. Бис-диспироиндолины **37-45** были получены в виде диастереомеров, которым была приписана относительная конфигурация стереоцентров ($2R^*$, $4S^*$, $4'S^*$) в соответствии с механизмом, представленным на Рисунке 2.41. В процессе получения соединений **37-45** образования других возможных диастереомеров по данным спектров ^1H ЯМР реакционных смесей зафиксировано не было.

Для подтверждения структуры целевых бис-диспироиндолинонов **типа IV** и соотнесения сигналов в спектрах ^1H и ^{13}C соединения **39** (Рисунок 3.15) и **41** были исследованы с помощью методов двумерной ЯМР-спектроскопии HSQC и HMBC⁵.

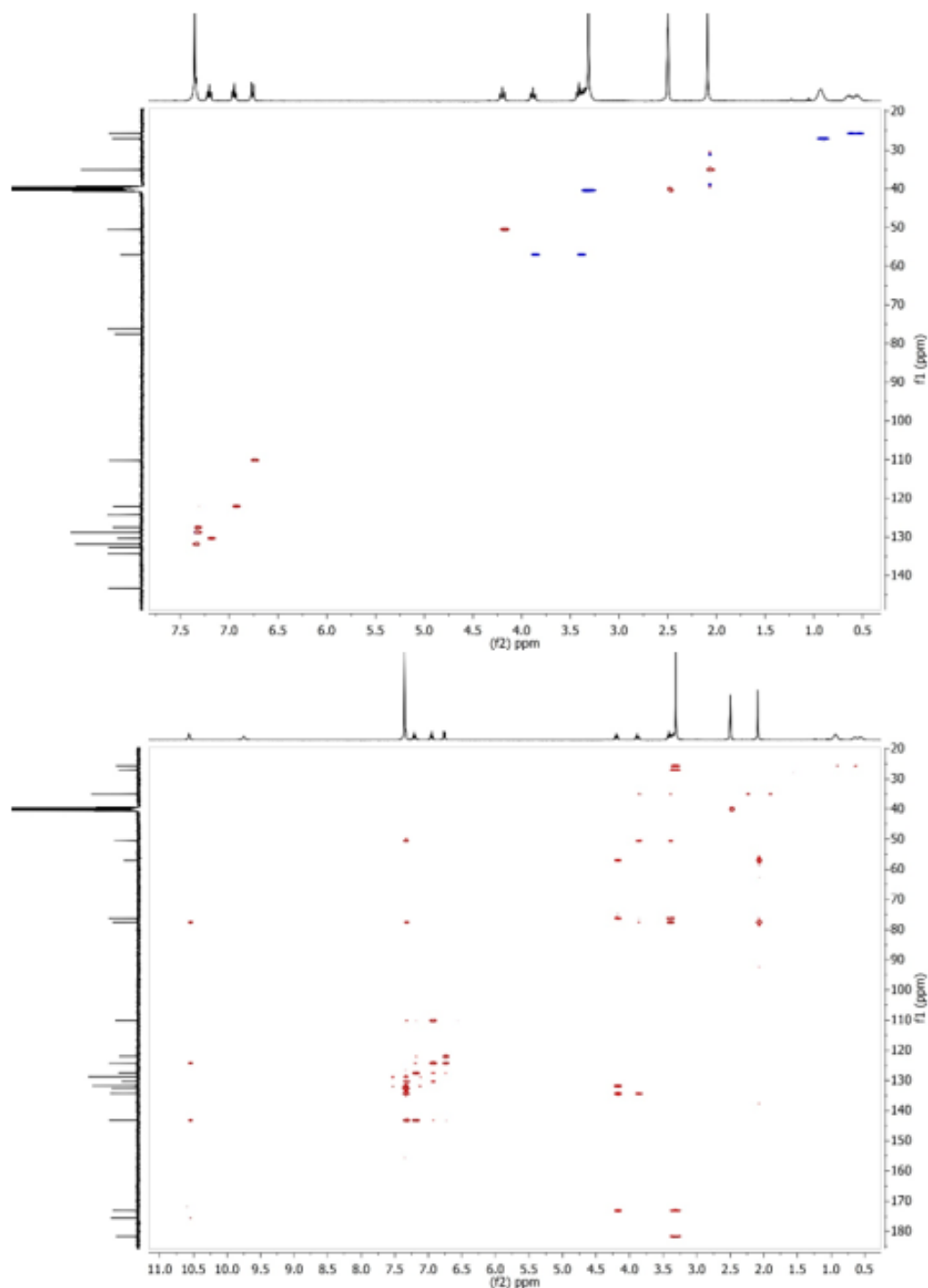


Рисунок 3.15. Двумерные ^1H - ^{13}C ЯМР спектры соединения **39** (сверху — HSQC, снизу – HMBC)

Атомы углерода соединений **39** и **41**, общие для спиро-сочленённых циклов, в ^{13}C ЯМР спектрах проявляются при ~ 76 и 77 м.д., и их принадлежность к имидазолидиновому или

⁵ Двумерные ЯМР-эксперименты здесь и далее проведены д.х.н., в.н.с. Гришиным Ю.К. (МГУ имени М.В. Ломоносова)

индолиноновому циклу однозначно устанавливается с помощью анализа корреляционных взаимодействий в спектре НМВС. Например, для атома углерода, сигнал которого находится при 76 м.д., вицинальное взаимодействие между атомами $^{13}\text{C} - ^1\text{H}$ наблюдается для атомов водорода -NH- группы и ароматического остатка в индолиноне, а также для протонов в пиррольном фрагменте и -N-CH₃ группе. Таким образом, данный четвертичный атом углерода является «индолиноновым», тогда как второй при 77 м.д. относится к фрагменту имидазолидина, т.к. для него корреляционные взаимодействия наблюдались только с протонами пирролидинового фрагмента.

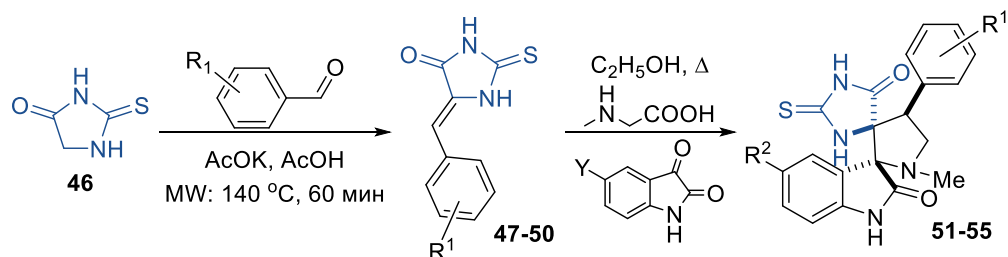
3.1.4. Биологическое тестирование бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов⁶

Некоторые из синтезированных в разделах 3.1.1-3.1.3 бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов структурных типов III и IV были исследованы на цитотоксичность в МТТ-тесте [227]. Биологическое тестирование не удалось провести для диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов структурного типа I ввиду их крайне низкой растворимости в ДМСО. Исследования проводились на клеточных линиях аденокарциномы молочной железы MCF7, карциномы лёгкого A549, и на здоровых клетках лёгкого эмбрионов человека VA13 и эмбриональных почек человека HEK293T⁷. Для исследования были выбраны соединения с набором заместителей в ароматических фрагментах, которые для структурно подобных соединений демонстрировали значимую цитотоксичность в МТТ-тестах [175,176].

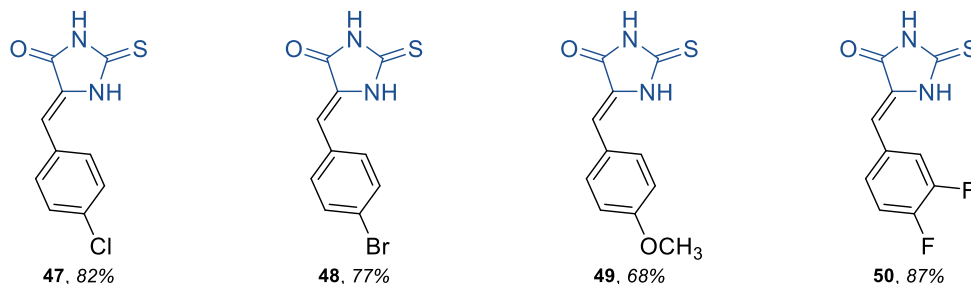
Для сравнения биологической активности были синтезированы моно-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны 51-56, содержащие те же заместители в ароматических фрагментах, что и исследуемые соединения гомо-PROTAC (Рисунок 3.16). Для их получения 2-тиогидантоин 46 вводили в реакцию с замещёнными бензальдегидами и ацетатом калия в уксусной кислоте при микроволновом облучении. Полученные тиогидантоины 47-50 вступали далее в реакции 1,3-диполярного циклоприсоединения с соответствующим изатином и саркозином.

⁶ При подготовке данного раздела диссертации использована следующая публикация, выполненная автором в соавторстве, в которой, согласно Положению о присуждении учёных степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Polyakov V.S., Barashkin A.A., Grishin Y.K., Tarasenko E.A., Beloglazkina E.K.. Synthesis of Chiral Dispiro-Indolinone-Pyrrolidine-Imidazolones Using (R) or(S)-1-(2,4-Dimethoxyphenyl)Ethyl Amine // *ChemistrySelect*. – 2025. – V. 10. – № 21. – P. e01276. EDN: MLRDWB. DOI: 10.1002/slct.202501276. Импакт-фактор 2,0 (JIF). Объём 0,7 п.л.

⁷ Биологические исследования проведены к.х.н, с.н.с. Д.А. Скворцовым (химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова).



Полученные 5-арилиден-2-тиогидантоины 47-50



Полученные моно-диспириноидиноны 51-55

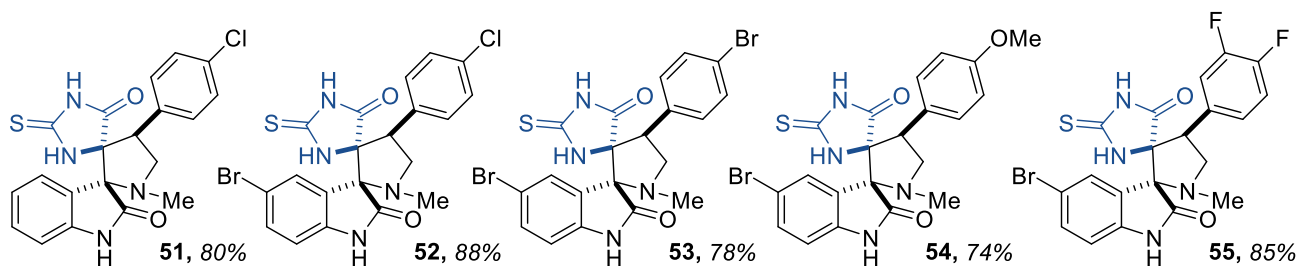


Рисунок 3.16. Получение моно-диспириноидинонов 51-55

Результаты проведенного биологического тестирования представлены в Таблице 3.2.

Таблица 3.2. Цитотоксичность *in vitro* некоторых полученных бис- диспириноидинон-пирролидин-имидазолонов в экспериментах на клеточных линиях HEK293T, MCF7, VA13 и A549 (MTT тест)

Соединение	Структурный тип	Линкер	IC ₅₀ , μM			
			HEK293T	MCF7	VA13	A549
25	III	-(CH ₂) ₄ -	32.94 ± 5.6	> 100	> 100	> 100
37	IV	-(CH ₂) ₄ -	16.04 ± 5.93	> 100	> 100	23.87 ± 7.52
39	IV	-(CH ₂) ₆ -	18.84 ± 3.0	23.23 ± 5.29	6.41 ± 0.88	14.27 ± 2.27
40	IV	-(CH ₂) ₆ -	41.47 ± 8.5	> 100	44.75 ± 4.48	74.48 ± 7.91
41	IV	-(CH ₂) ₈ -	> 100	> 100	> 100	> 100
42	IV	-(CH ₂) ₈ -	> 100	> 100	> 100	> 100
43	IV	-(CH ₂) ₈ -	> 100	> 100	72.12 ± 16.8	> 100
51		моно-аналог 39	60.29 ± 6.88	> 100	50.7 ± 9.7	> 100
52		моно-аналог 41	70.21 ± 10.87	48.81 ± 6.6	69.96 ± 6.13	80.38 ± 7.28

53		моно-аналог 42	28.39 ± 3.76	18.23 ± 1.71	51.52 ± 5.46	32.48 ± 3.18
54		моно-аналог 25 и 37	30.26 ± 4.55	45.54 ± 4.6	57.79 ± 7.17	51.75 ± 5.82
Доксор убицин			14.58 ± 4.50	> 100	26.63 ± 8.82	> 100

Из данных, представленных в таблице 3.2, можно сделать вывод, что большая часть исследованных молекул проявляет более низкую цитотоксичность, чем соответствующие им моно-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны. Исключением является соединение **39** с линкером (CH₂)₆, обладающее заметно большей цитотоксичностью на всех исследованных клеточных линиях (для клеток **A549** почти на порядок) по сравнению со своим моно-аналогом **51**. Это подтверждает значительное влияние длины линкера между функциональными фрагментами в молекулах гомо-PROTAC на эффективность их биологического действия.

3.2. Молекулы гетеро-PROTAC на основе диспироиндолинонов⁸

Разработав методы получения гомо-PROTAC молекул диспиро-тиоимидазолон-пирроллидин-индолинонов различных структурных типов, мы перешли к исследованию возможности получения конъюгатов диспироиндолинонов и известных лигандов E3-убиквитинлигазы cereblona (CRBN). В отличие от синтеза симметричных структур, при создании которых удобно использовать полиметиленовые линкеры, для несимметричных молекул гетеро-PROTAC целесообразно использовать линкеры с амидными или триазольными связями, позволяющие объединять два различных функциональных фрагмента. По данным обзора литературы, амидные и полиметиленовые линкеры наиболее часто использовались при создании молекул PROTAC. Разработку молекул гетеро-PROTAC мы начали со структур с амидным линкером, поскольку соединения с таким типом связи описаны в литературе на большем числе примеров, в том числе они присутствуют в представленных в разделе 2.2.1 структурах, проходящих клинические исследования.

3.2.1. Молекулы PROTAC на основе диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов и помалидомида

⁸ При подготовке данного раздела диссертации использована следующая публикация, выполненная автором в соавторстве, в которой, согласно Положению о присуждении учёных степеней в МГУ, отражены основные результаты, положения и выводы исследования: Polyakov, V.S., Grishin, Y.K., Tafeenko, V.A., Ivanova, E.S., Pogodaeva, S.S., Moldavskii, D.V., Shtil, A.A., Beloglazkina, E.K. Dispiroindolinone-Glutarimide Conjugates: Synthesis and Evaluation as Potential Hetero-PROTACs for p53 Reactivation // *Molecules*. – 2026. – V. 31. – № 10. – P. 1602. EDN: XXXXXX. DOI: 10.3390/molecules31101602. Импакт-фактор 4.6 (JIF). Объём 1,5 п.л.

На первом этапе исследования мы изучили возможность синтеза молекул гетеро-PROTAC на основе диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов, соединённых с наиболее широко используемым лигандом E3-убиквитинлигазы CRBN помалидомидом (структурный тип V, Рисунок 3.3). Молекула помалидомида имеет первичную амино-группу, к которой можно присоединять дополнительные фрагменты без потери способности к связыванию с CRBN. Следовательно, молекулы диспироиндолинонов для соединения с помалидомидом целесообразно модифицировать линкерами с концевой карбоксильной группой для образования амидной связи.

Для синтеза соединения структурного типа V была предложена синтетическая схема, состоящая из 6 последовательных стадий (Рисунок 3.17).

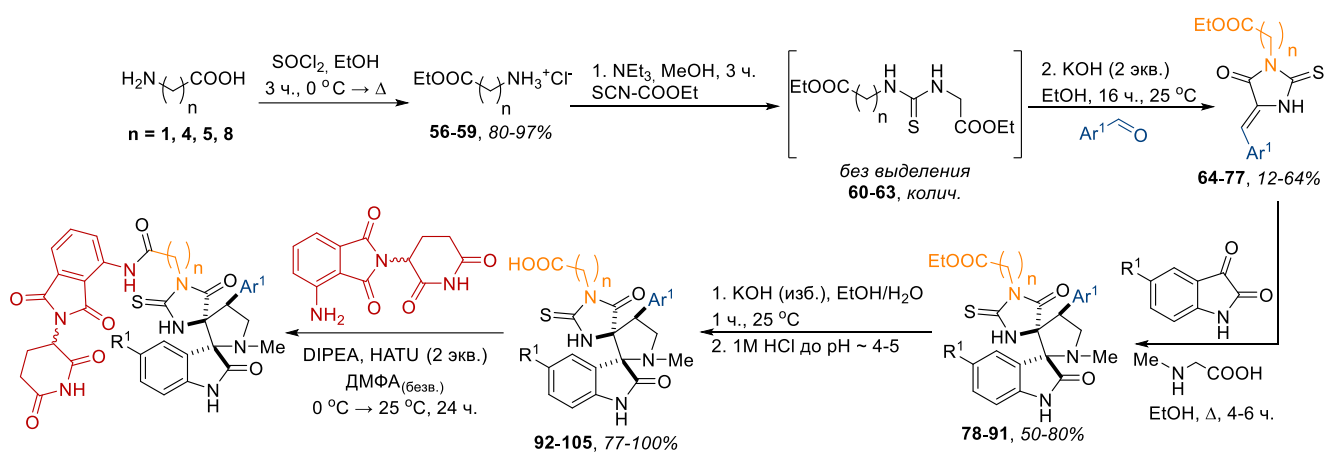


Рисунок 3.17. Общая схема получения молекул PROTAC структурного типа V на основе диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов и помалидомида

Исходя из ω -аминокарбоновых кислот с различной длиной полиметиленового фрагмента кипячением с SOCl_2 в этаноле были получены гидрохлориды соответствующих этиловых эфиров **56-59** по известным методикам [228] с хорошими выходами. Очистку полученных соединений проводили перекристаллизацией из этанола (для соединения **56**) или из этилацетата (для эфиров **57-59**).

Далее гидрохлориды этиловых эфиров ω -аминокарбоновых кислот **56-59** депротонировали триэтиламинем для получения свободного основания и присоединяли к изотиоцианатоэтилацетату с получением тиомочевин **60-63**, которые без дополнительной очистки циклизовали с замещёнными бензальдегидами в 5-арилметилен-2-тиогидантоины обработкой KOH в этаноле (Рисунок 3.18).

Наилучшие выходы этиловых эфиров **64-69** демонстрировали производные на основе глицина, что, вероятно, связано с симметричным строением образующихся в этом случае

тиомочевин. Остальные 5-арилметилен-2-тиогидантоины **70-77** оказывались сильно загрязнены побочными продуктами, что требовало их дополнительной очистки.

Стоит отметить, что тиогидантоины **70-71** и **76-77**, замещённые по N(3) фрагментами 5-аминовалериановой и 9-аминононановой кислот, не удалось выделить с чистотой более 75% даже после очистки с помощью препаративной хроматографии. Поэтому 2-тиогидантоины (**70-71**, **76-77**) не исследовали далее в реакциях (3+2)-циклоприсоединения.

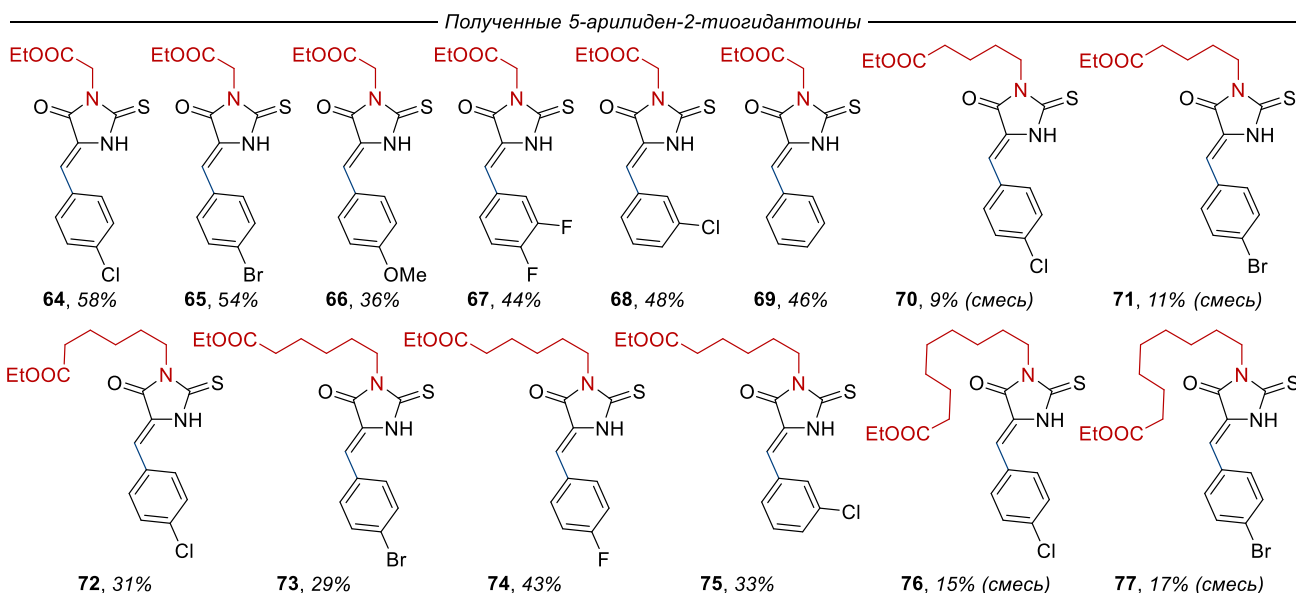
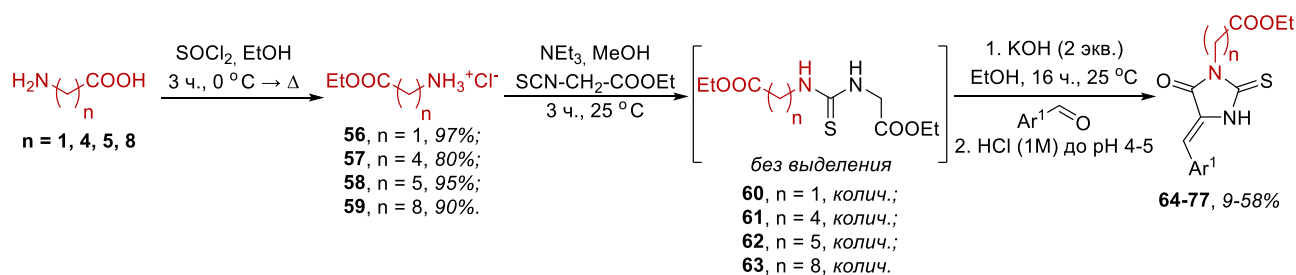


Рисунок 3.18. Получение 5-арилден-2-тиогидантоинов **64-77** из ω -аминокарбоновых кислот

Остальные соединения **64-69**, **72-75** получались с удовлетворительными выходами в виде (*Z*)-изомеров, сигналы винильных протонов которых проявлялись в ^1H ЯМР-спектрах (Рисунок 3.19) в виде синглетов при 6.6 – 6.8 м.д. Характеристичными сигналами этих 2-тиогидантоинов являются, помимо синглета винильного протона, сигналы этокси-групп: квадруплет $-\text{OCH}_2-$ в области 4.0 – 4.2 м.д. и триплет $-\text{OCH}_2-\text{CH}_3$ в области 1.1 – 1.3 м.д., а также синглет фрагмента $\text{N-CH}_2-\text{COOEt}$ в области 4.5 – 4.7 м.д. (для производных глицина) или триплет $\text{N-CH}_2-(\text{CH}_2)_n-\text{COOEt}$ при ~ 3.8 м.д. (для остальных соединений).

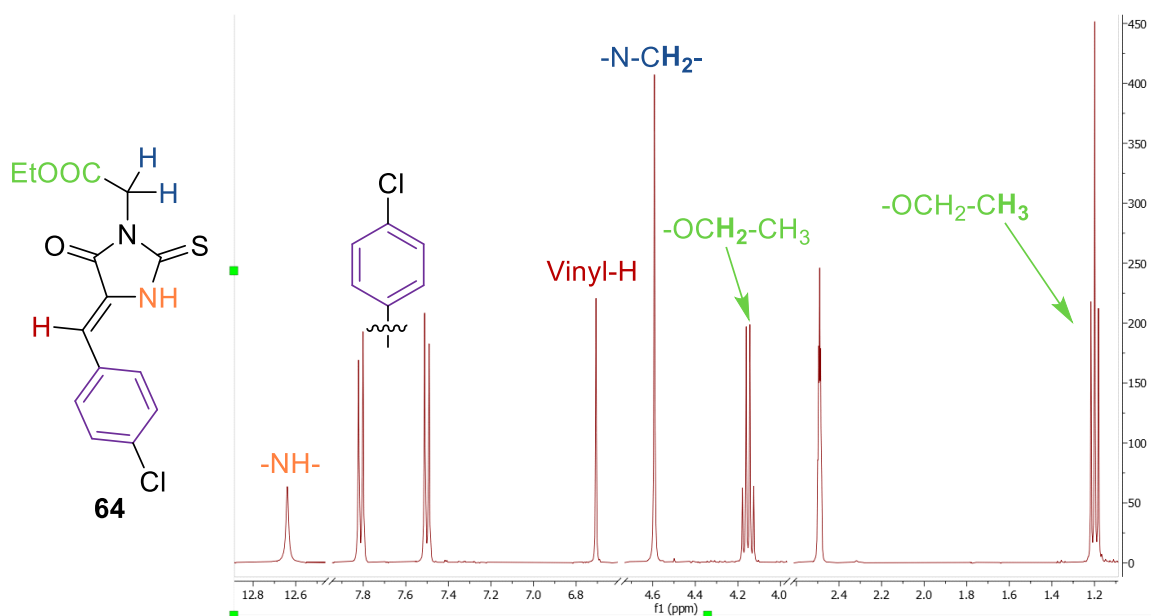


Рисунок 3.19. Спектр ¹H ЯМР соединения 64 с выделенными характеристичными сигналами

Из полученных тиогидантоинов **64-69** и **72-75**, изатинов и саркозина по стандартной методике, описанной в предыдущих разделах, с хорошими выходами была получена серия диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов **78-91** (Рисунок 3.20). Часть соединений удалось очистить с помощью перекристаллизации из этанола, остальные были выделены в индивидуальном виде с помощью колоночной хроматографии.

Все продукты **78-91** были охарактеризованы методами ¹H и ¹³C ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения. Характеристичными сигналами в их спектрах ЯМР ¹H являются сигналы трёхспиновой системы пирролидиновых протонов в области 3.3 – 4.2 м.д., сигналы имидазолидинового и индолинонового NH-протонов (при 10.0 – 10.5 м.д. и 10.6 – 10.8 м.д., соответственно), а также сигнал фрагмента N-CH₂-, который представляет собой дублет дублетов из-за того, что эти протоны становятся диастереотопными за счёт наличия хиральных атомов углерода в молекуле.

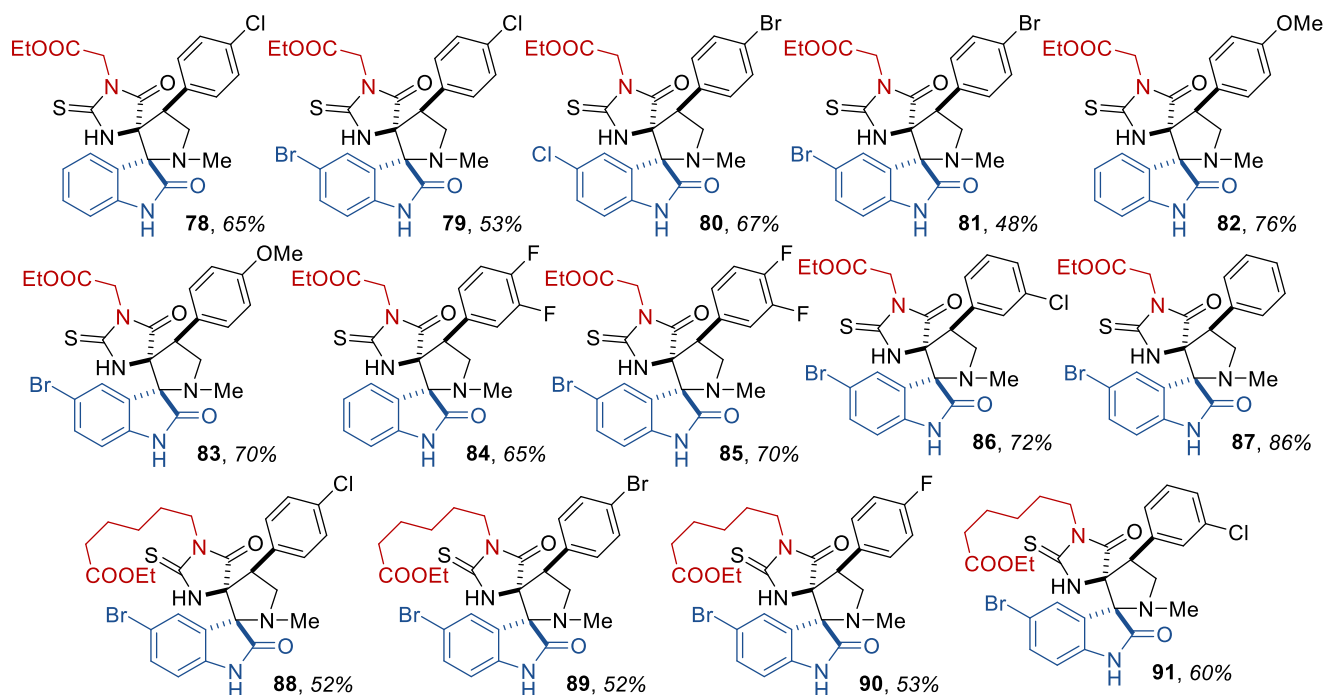
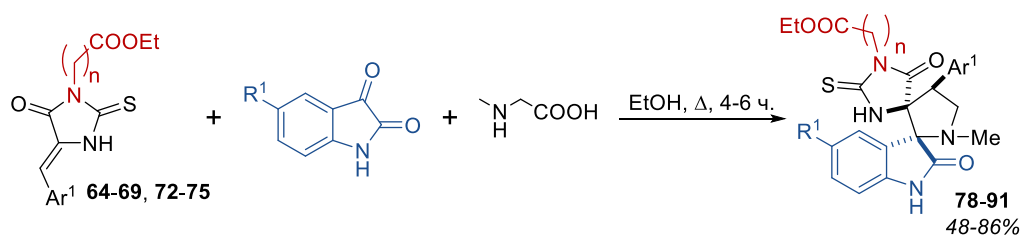


Рисунок 3.20. Получение диспироиндолинонов со сложноэфирной группой **78-91**

Далее сложные эфиры **78-91** подвергали щелочному гидролизу с получением соответствующих солей кислот, после чего реакционную смесь подкисляли до pH ~4-5 с помощью 1M HCl. Как было показано в ранних исследованиях нашей группы, из-за наличия пирролидинового цикла в молекуле диспироиндолинонов они способны образовывать соли с неорганическими кислотами при pH ~2-3, поэтому важно контролировать кислотность среды в ходе проведения данной реакции.

Оптимальными условиями щелочного гидролиза оказалось использование смеси 10% водного раствора KOH и 95% этанола (1:1 по объёму, 2 мл смеси на 0.1 ммоль сложного эфира). Полученные кислоты при подкислении раствора выпадали из реакционной смеси в виде осадка, легко отделяемого фильтрованием. Все кислоты **92-105** (Рисунок 3.21) были получены с выходом, близким к количественному, за исключением фторсодержащих кислот **98** и **99**, которые имеют повышенную растворимость в воде, по-видимому, за счёт образования большего числа водородных связей.

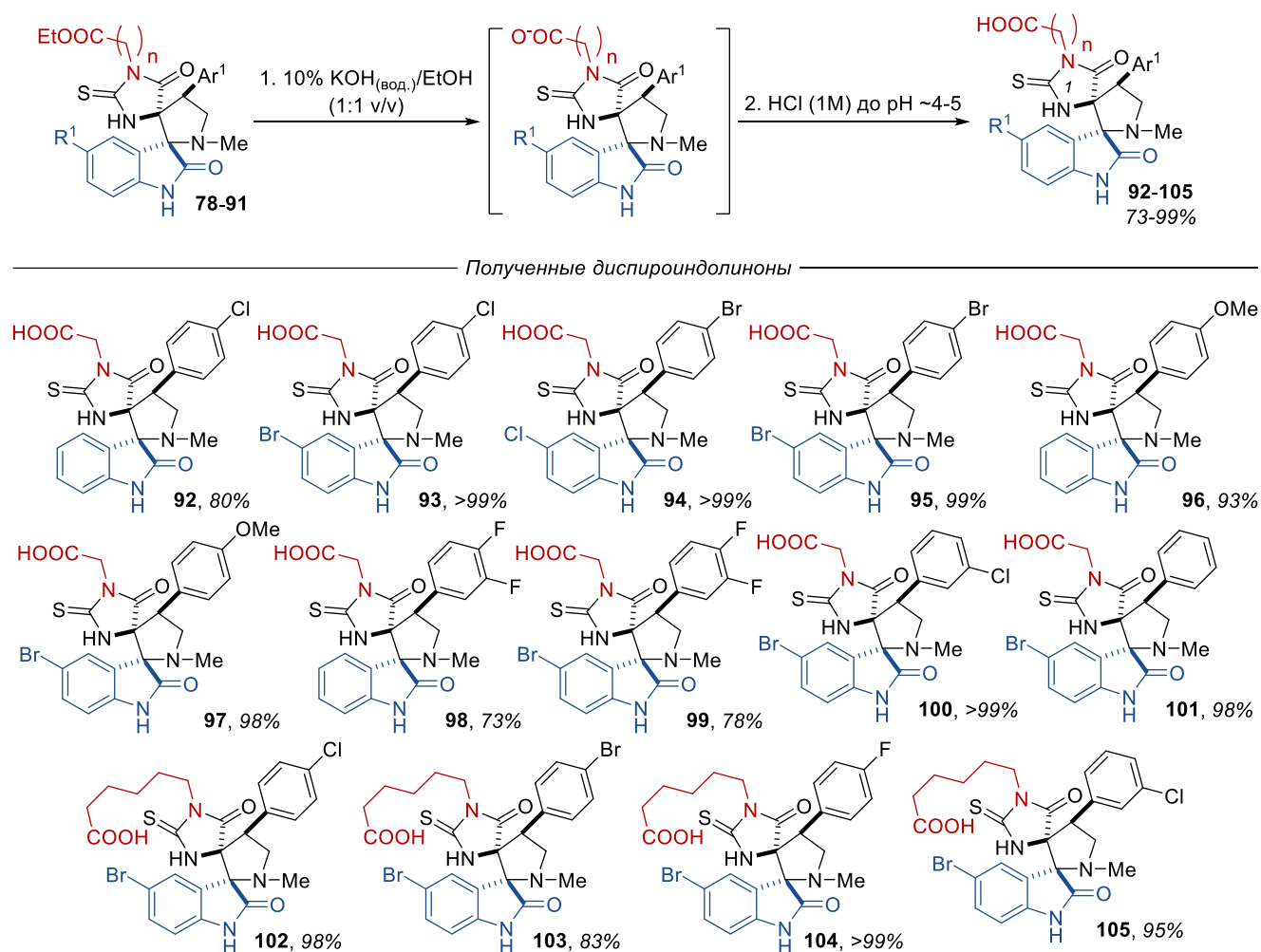


Рисунок 3.21. Получение диспироиндолинов с карбоксильной группой **92-105**

Структура диспироиндолинона с карбоксильной группой при атоме азота N(1) имидазолидинового цикла на примере соединения **103** дополнительно была установлена с помощью рентгеноструктурного анализа⁹ (Рисунок 3.22), который подтвердил относительную конфигурацию атомов центрального пирролидинового цикла ($2'R^*$, $3'S^*$, $4'S^*$).

⁹ Рентгенографические исследование здесь и далее проведено к.х.н. Тафенко В.А. (МГУ имени М.В. Ломоносова)

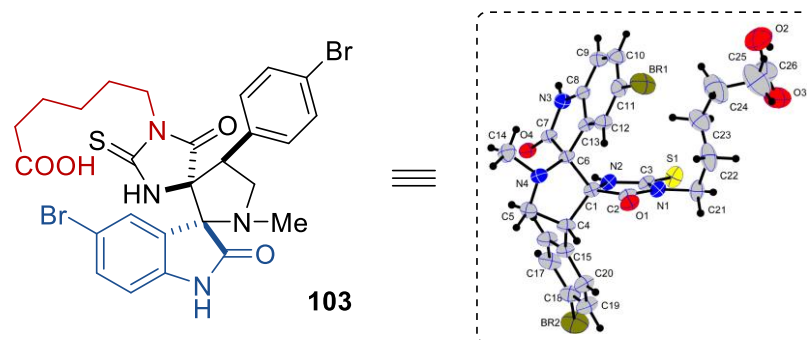


Рисунок 3.22. Молекулярная структура соединения **103**, подтвержденная рентгенографическим исследованием

Подтверждением полноты протекания гидролиза сложного эфира служит отсутствие сигналов этокси-групп в спектрах ^1H ЯМР соединений **92-105**. Так, в спектре кислоты **97** (Рисунок 3.23) присутствуют характерные синглеты $-\text{OCH}_3$ и $-\text{NCH}_3$ групп при 3.72 и 2.10 м.д., соответственно; сигналы NH-протонов, отличающиеся по сдвигу от соответствующих протонов исходного соединения (10.7 / 10.25 м.д. для сложного эфира **83** и 10.76 / 10.05 м.д. у кислоты **97**); а также сигналы протонов пирролидинового цикла, один из которых накладывается на сигнал $-\text{N-CH}_2-\text{COOH}$ группы.

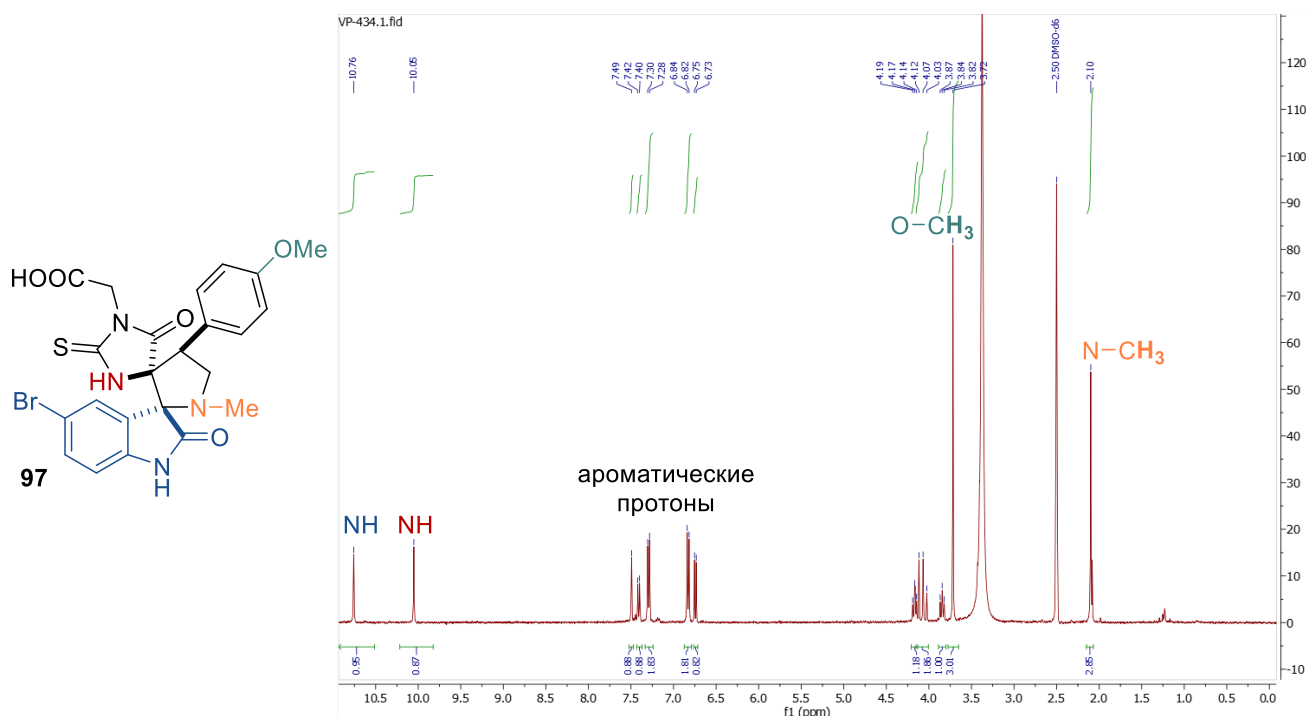


Рисунок 3.23. Спектр ^1H ЯМР соединения **97**, в котором цветом отмечены характеристичные сигналы.

Для некоторых полученных кислот **92-105** и сложных эфиров **78-91** (Таблица 3.3) было проведено исследование цитотоксичности методом FCCT теста¹⁰, поскольку ранее

¹⁰ Биологические исследования проведены к.х.н, с.н.с. Д.А. Скворцовым (химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова).

диспирииндолиноны с другими заместителями при атоме азота N(1) имидазолидинового цикла показывали высокую цитотоксическую активность [175,176].

Таблица 3.3. Цитотоксичность *in vitro* некоторых полученных диспирииндолинонов **78-105** в экспериментах на клеточных линиях A549, VA13, MCF7 и MCF10A (FCST тест)

Соединение	Тип соединения	CC ₅₀ , μM			
		A549	VA13	MCF7	MCF10A
78	Этиловый эфир	> 50	38,12	24,37	> 50
80	Этиловый эфир	> 50	15,61	12,79	> 50
82	Этиловый эфир	> 50	> 50	> 50	> 50
83	Этиловый эфир	> 50	> 50	> 50	> 50
84	Этиловый эфир	> 50	44,43	> 50	> 50
85	Этиловый эфир	> 50	43,55	> 50	> 50
93	Кислота	> 50	> 50	> 50	> 50
95	Кислота	> 50	> 50	> 50	> 50
97	Кислота	> 50	> 50	> 50	> 50
98	Кислота	> 50	> 50	> 50	> 50
99	Кислота	> 50	> 50	> 50	> 50
102	Кислота	16,75	33,01	12,38	31,98
103	Кислота	> 50	17,24	11,66	15,38
104	Кислота	> 50	> 50	> 50	> 50
105	Кислота	17,60	25,68	16,58	28,37

Из данных, представленных в таблице 3.3, видно, что диспирииндолиноны, содержащие этоксикарбонилметильную или карбоксиметильную группу при атоме азота N(1) имидазолидинового цикла, не проявляют высокой цитотоксической активности, за исключением сложного эфира **80** и кислот **102-103** и **105**, полученных из 6-аминогексановой кислоты, продемонстрировавших умеренную цитотоксичность на некоторых клеточных линиях.

Далее были проведены попытки синтеза конъюгата кислоты **92** (1 экв.) с помалидомидом (1 экв.) в стандартных для получения подобных амидов условиях [229] — используя NATU (2 экв.) в качестве активатора карбоксильной группы, DIPEA (4 экв.) в качестве основания и безводный ДМФА как растворитель (Рисунок 3.24). Спустя 24 часа после начала реакции по данным ТСХ наблюдалась полная конверсия исходной кислоты, при отсутствии конверсии помалидомида. Далее при разделении реакционной смеси с помощью колоночной хроматографии целевой продукт **106** не был обнаружен ни в одной из фракций.

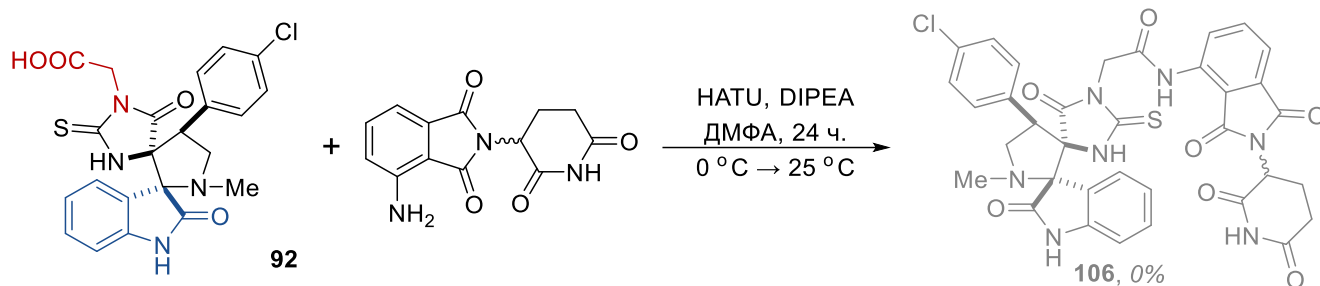


Рисунок 3.24. Попытка получения молекулы **106** на основе диспироиндолинона и помалидомида

Повышение температуры реакционной смеси, варьирование растворителя и активатора карбоксильной группы давали аналогичные результаты — практически нулевая конверсия исходного помалидомида. По-видимому, основание, находящееся в реакционной смеси в избытке, способно депротонировать исходный диспироиндолинон как по более кислой карбоксильной группе $-\text{COOH}$, так и, в меньшей степени, по $-\text{NH}-\text{C}(\text{S})-$ группы тиюимидазолон ($\text{pK}_a = 13.3$ и ~ 28.0 , соответственно [219]), а образующийся при депротонировании тиюамидной группы тиолят-анион является более сильным нуклеофилом, чем атом азота амино-группы помалидомида. Образующийся тиолят-анион может внутримолекулярно атаковать активированную HATU карбоксильную группу, а также межмолекулярно — активированную HATU карбоксильную группу другой молекулы диспироиндолинона, в результате вместо целевого продукта **106** в ходе реакции образуются тиазолидинон **A**, димер **B** и из последнего далее — олигомеры (Рисунок 3.25).

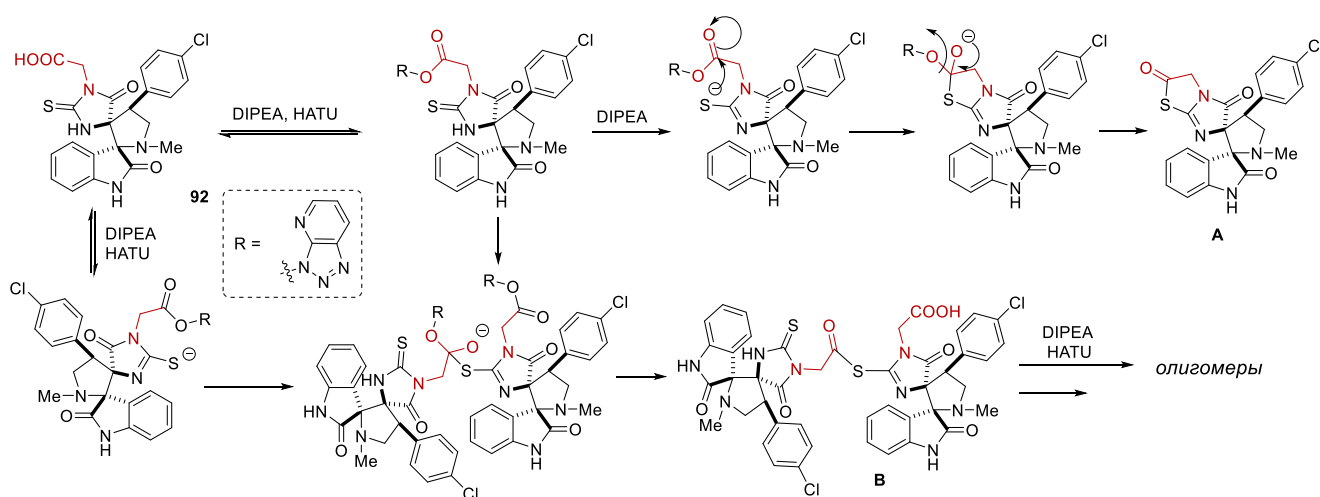


Рисунок 3.25. Предположительный механизм образования побочных продуктов реакции пептидного синтеза

Таким образом, недостаточная нуклеофильность ароматического атома азота помалидомида является ключевой проблемой в синтезе молекул структурного типа **V**. Для её решения мы получили на основе помалидомида более нуклеофильный алифатический амин **108** двухстадийной последовательностью реакций, показанной на Рисунке 3.26. На первой стадии помалидомид был проацилирован N-Вос- β -аланином в условиях реакции пептидного синтеза.

Поскольку помалидомид, по результатам предыдущих исследований, оказался крайне малореакционноспособным соединением, реакцию проводили в ДМФА в течение 7 суток при небольшом нагревании до 35 °С, раз в двое суток добавляя дополнительное количество активатора HATU и основания DIPEA. При этом удалось получить целевой продукт **107** с удовлетворительным выходом, после чего провели удаление Boc-защитной группы в смеси CF₃COOH/CH₂Cl₂ (1:3 по объёму) с получением трифторацетата амина **108**.

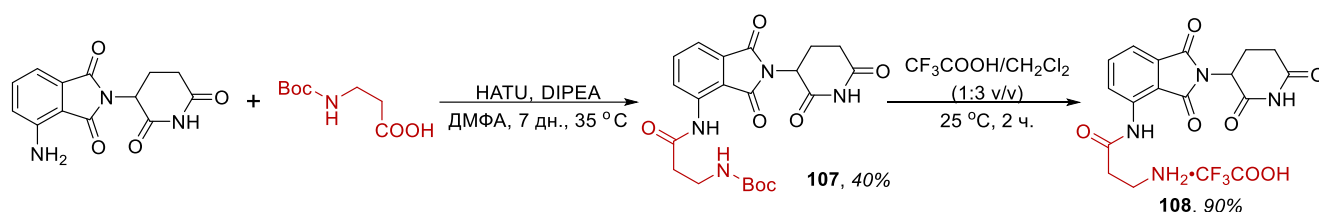
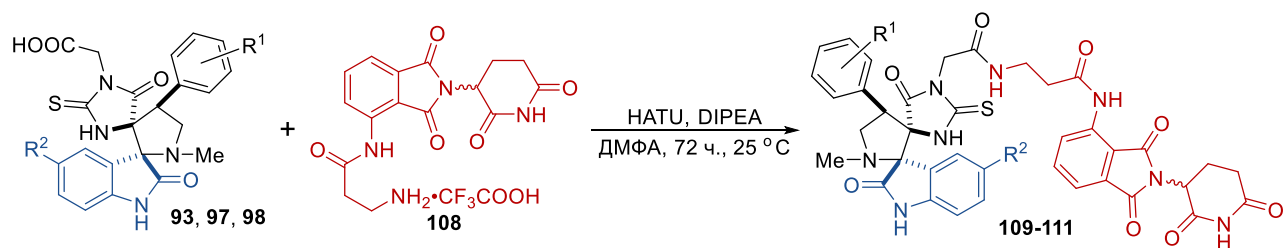


Рисунок 3.26. Получение амина **108** из помалидомида и N-Вос-β-аланина

Получение амина **108** позволяет решить две проблемы, связанные с помалидомидом: 1) атом азота алифатической амино-группы в **108** является гораздо более нуклеофильным по сравнению с анилиновым атомом азота исходного помалидомида; 2) удлинение линкера между фрагментом помалидомида и диспироиндолиноновым фрагментом в целевом конъюгате на 4 атома может позитивно сказаться на активности молекулы PROTAC. Полученный амин **108** далее ввели в реакцию с кислотой **97** в стандартных условиях (Рисунок 3.27), получив целевой продукт **109**. Таким образом, была продемонстрирована возможность получения молекул PROTAC структурного типа **V**.

По отработанной методике были получены конъюгаты диспироиндолинонов и помалидомида структурного типа **V** из кислот **93** и **98** — соединения **110** и **111** (Рисунок 3.27), соответственно, охарактеризованные методами ¹H и ¹³C ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения.



Полученные молекулы PROTAC структурного типа V

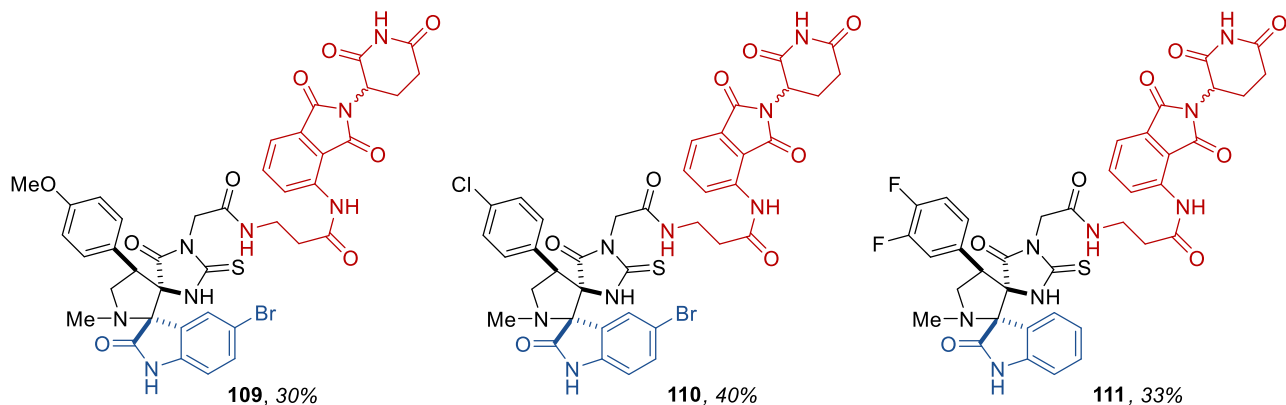


Рисунок 3.27. Получение конъюгатов диспироиндолинонов и помалидомида структурного типа V на основе диспироиндолинонов **93,97** и **98** и β -аланил-помалидомида **108**

Характеристичными пиками (Рисунок 3.28) конъюгатов типа V являются (на примере соединения **111**): 4 синглета 4-х амидных протонов при 11.16, 10.61, 9.94 и 9.78 м.д., триплет NH-протона β -аланинового фрагмента при 8.11 м.д.; дублет дублетов при 5.15 м.д. -N-C(O)-CH-C(O)- фрагмента помалидомида; сигналы трёхспиновой системы пирролидинового цикла, два из которых накладываются на сигналы диастереотопных протонов -N(1)-CH₂- имидазолидинового цикла (мультиплеты при 4.13 – 4.17 и 3.83 – 3.92 м.д.), а последний наблюдается при 3.42 м.д. Аналогично бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонам типа IV, в спектрах ¹H ЯМР всех трёх соединений **109-111** наблюдается только один набор сигналов, несмотря на то что должна образовываться смесь диастереомеров из-за того, что соединения **93,97,98** и реагирующее с ними **108** существуют в виде пар энантиомеров. Это может быть связано с гибким и длинным линкером, присутствующим в соединениях **109-111**, который сильно отдаляет хиральный атом углерода в остатке помалидомида от стереоцентров диспироиндолинонового фрагмента.

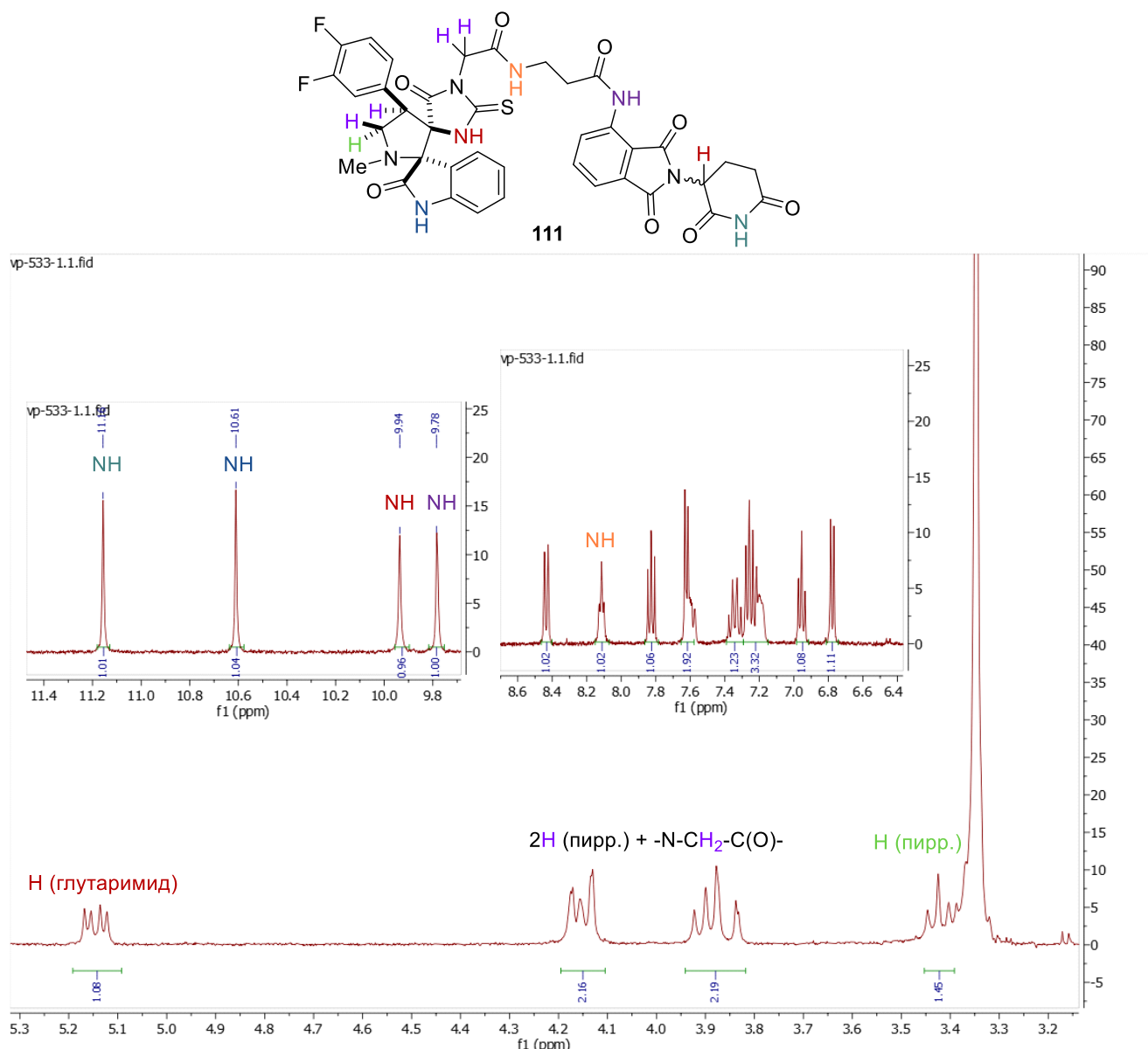


Рисунок 3.28. Фрагменты спектра ^1H ЯМР соединения **111** с выделенными характеристичными сигналами

Таким образом, в данном разделе был разработан синтетический подход к молекулам гетеро-PROTAC структурного типа **V**, содержащим фрагменты диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинона и помалидомида, соединённые амид-содержащим линкером.

3.2.2. Молекулы PROTAC на основе диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов и glutarimida

Синтетические сложности при использовании помалидомида для получения молекул PROTAC, связанные с низкой нуклеофильностью его ароматической амино-группы и необходимостью дополнительной модификации, стимулировали нас на поиск других лигандов E3-убиквитинлигазы CRBN, лишённых этого недостатка. В качестве такого лиганда были выбраны более простые молекулы — производные glutarimida, которые также были ранее

предложены для синтеза молекул PROTAC как лиганды белка cereblona (см. обзор литературы, раздел 2.1.2). Недавно был описан удобный метод синтеза азидо-производного глутаримида **153** (Рисунок 3.39) [66], которое можно использовать в медь-катализируемой реакции азид-алкинового циклоприсоединения (CuAAC). Реакция CuAAC удобна для применения в синтезе молекул PROTAC, но пока мало исследована для создания подобных молекул. Для получения конъюгатов с азидометилглутаримидом необходимо синтезировать спироиндолиноны, содержащие фрагмент терминального алкина.

Доступными реагентами, содержащими концевую тройную углерод-углеродную связь, являются пропаргилбромид или пропаргиламин. Исходя из пропаргиламина, удобно получать диспироиндолиноны с пропаргильными фрагментами при атоме N(1) имидазолидина; а исходя из пропаргилбромидов легко получить диспироиндолиноны с пропаргильными фрагментами при атоме серы. На основе обоих типов пропаргилированных диспироиндолинонов были получены их конъюгаты с азидометилглутаримидом структурных типов **VI** и **VII** (Рисунок 3.29).

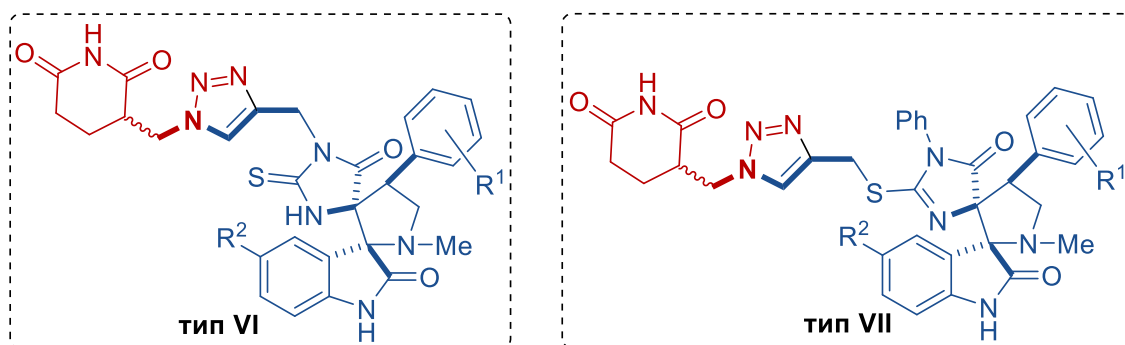


Рисунок 3.29. Общая структура молекул гетеро-PROTAC на основе диспиро-индолинон-пирролидин-имидазолонов и α -азидометилглутаримида структурных типов **VI** и **VII**

Для получения конъюгатов структурного типа **VI** была разработана синтетическая схема (Рисунок 3.30, а), состоящая из стандартных для получения диспироиндолинонов реакций: образование тиомочевины, конденсация её с замещёнными бензальдегидами и региоселективное (3+2)-циклоприсоединение азидометилглутаримида. Для получения молекул структурного типа **VII** (Рисунок 3.30, б) сначала были получены N(3)-фенил-5-арилиден-2-тиогидантоины, введенные в реакции нуклеофильного замещения с пропаргилбромидом в этаноле. Полученные S-пропаргилированные производные вводили в реакцию (3+2)-циклоприсоединения с азидом **153**.

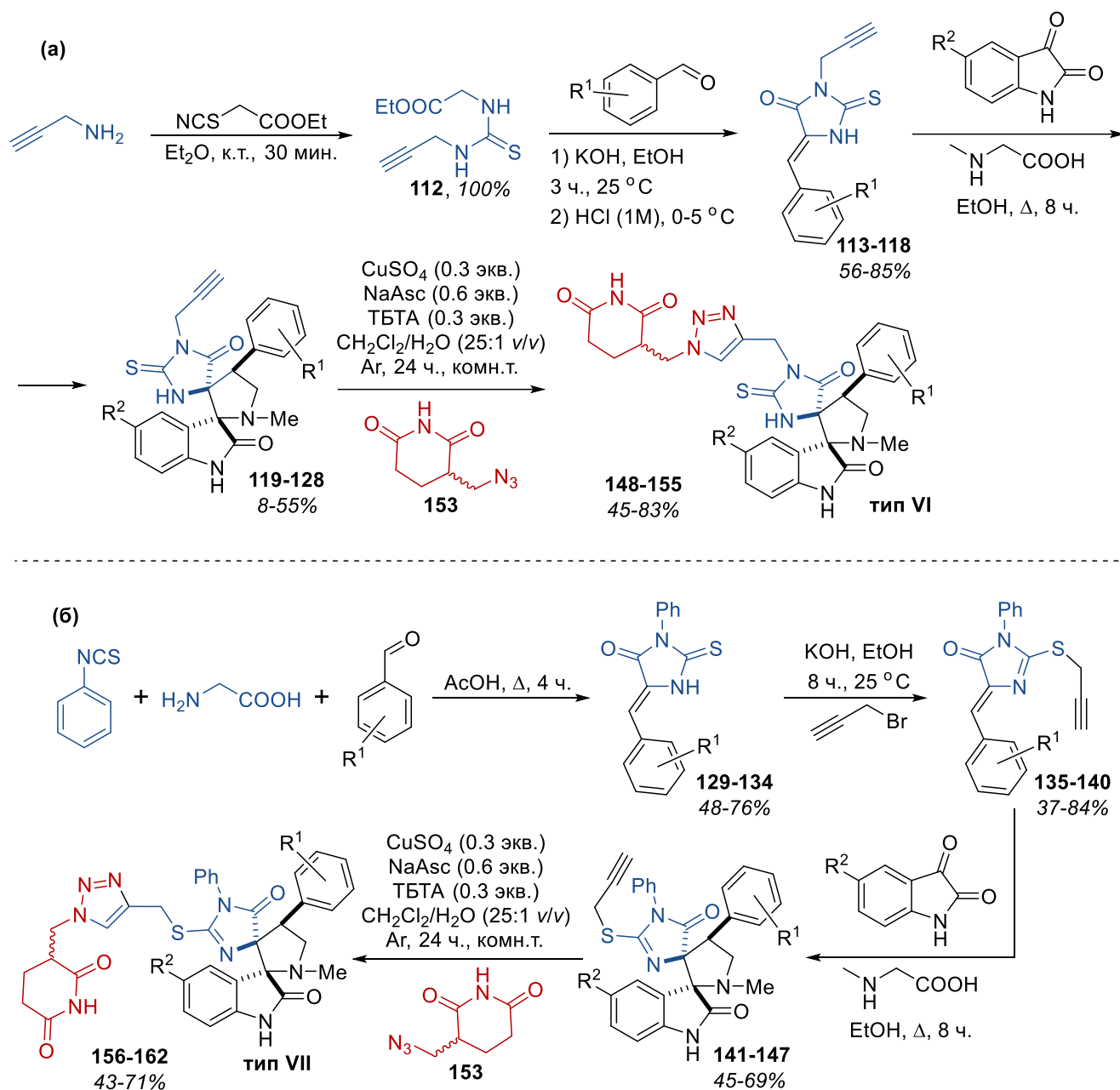


Рисунок 3.30. Общие схемы получения конъюгатов диспироиндолинонов с глутаримидом: а) структурного типа VI; б) структурного типа VII

На первой стадии синтеза соединений структурного типа VI была получена серия N(3)-пропаргил-замещенных 2-тиогидантоинов **113-118** (Рисунок 3.31). Полученные соединения **114-116** вводили в следующую стадию без дополнительной очистки, поскольку использование колоночной хроматографии существенно снижало их выход (до 15-20%). Соединения **117** и **118** очищали промыванием осадка на фильтре холодным диэтиловым эфиром.

Характеристическими сигналами в спектрах ^1H ЯМР полученных 2-тиогидантоинов **114-118** являются сигналы пропаргильного заместителя — дублет $-\text{N}-\text{CH}_2-$ группы с КССВ 1.5 – 3.0 Гц при 4.4 – 4.6 м.д., и триплет $-\text{C}\equiv\text{CH}$ с такой же КССВ при 3.1 – 3.4 м.д.

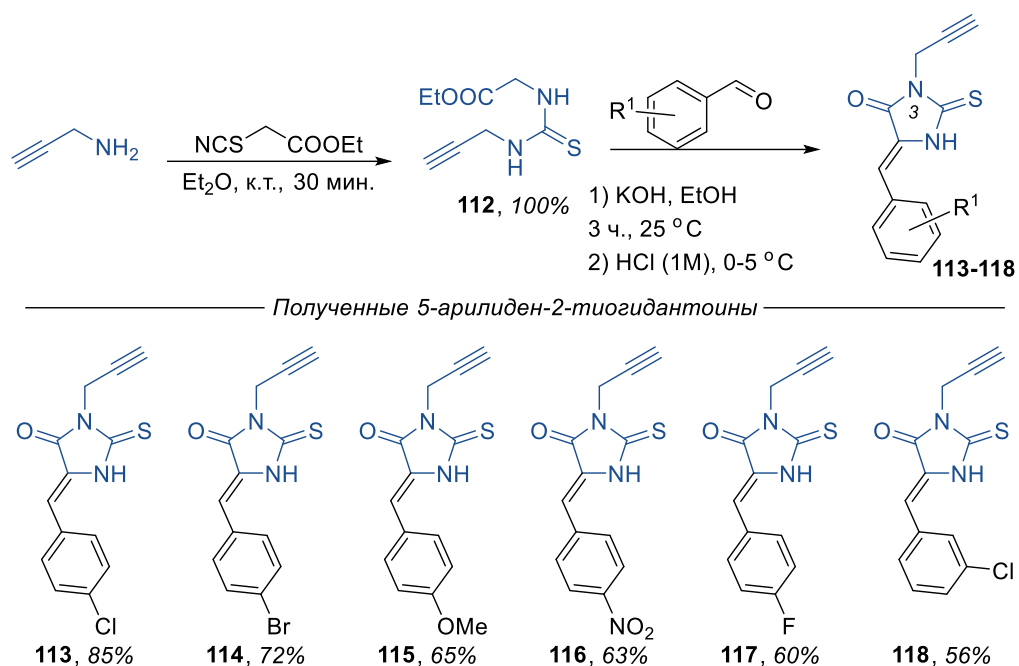


Рисунок 3.31. Получение 2-тиогидантоинов **114-118** с пропаргильным заместителем у атома N(3)

Далее полученные тиогидантоины **114-118** вводили в реакцию 1,3-диполярного циклоприсоединения с азометинилидом, генерируемым из изатинов и саркозина, в стандартных условиях, получая диспироиндолиноны **119-128** (Рисунок 3.32). Строение всех полученных диспироиндолинонов **119-128** было подтверждено методами ^1H ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения.

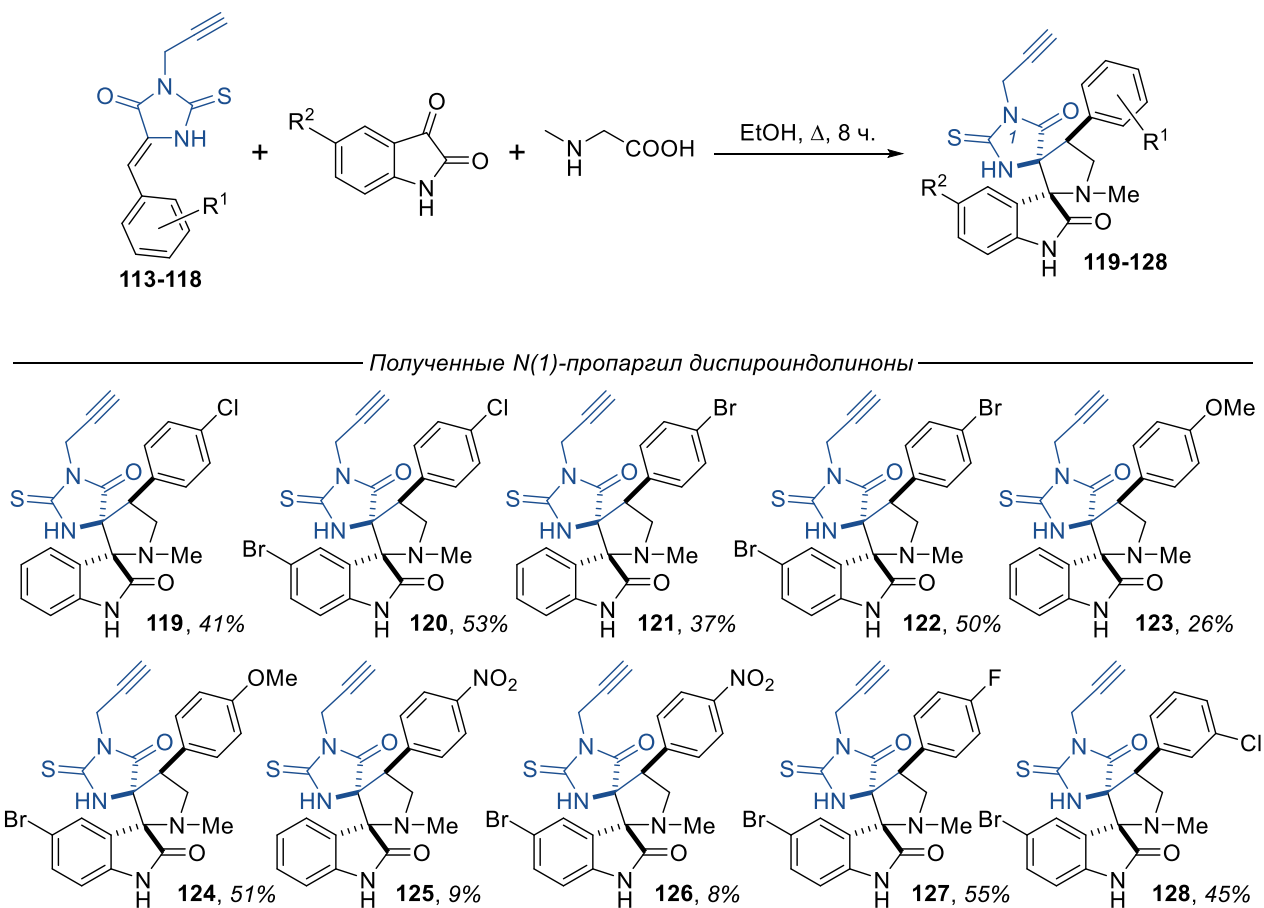


Рисунок 3.32. Получение диспироиндолинонов **119-128** с пропаргильным заместителем у атома N(1) имидазолидина

На примере соединения **121** (Рисунок 3.33) можно проиллюстрировать характеристичные сигналы диспироиндолинонов в спектрах ^1H ЯМР: сигналы трёх протонов пирролидинового цикла, сигналы NH-протонов имидазолидинового и индолинонового циклов, а также сигнал пропаргильной группы. Триплет $-\text{C}\equiv\text{CH}$ с КССВ 2.4-2.5 Гц в области 3.1 – 3.4 м.д. для некоторых соединений не наблюдается из-за наложения на сигнал воды, содержащейся в ДМСО- d_6 . Сигнал $-\text{N}-\text{CH}_2-$ группы немного смещается в область более сильного поля (4.1 – 4.3 м.д.) по сравнению с аналогичным сигналом в исходном 5-арилметилен-2-тиогидантоине и накладывается на сигнал одного из протонов пирролидинового цикла.

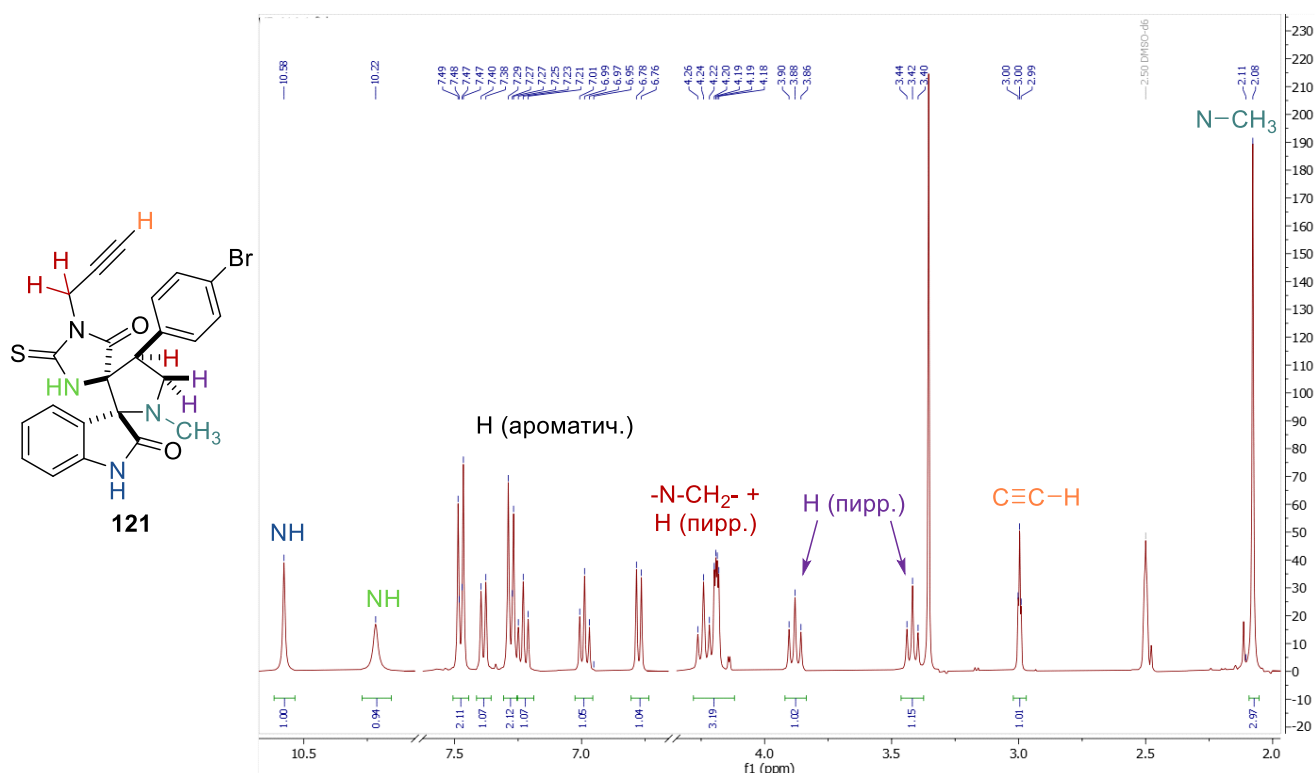


Рисунок 3.33. Спектр ^1H ЯМР соединения **121** с выделенными характеристическими сигналами

Структура соединения **121** дополнительно была установлена по данным рентгеноструктурного анализа. (Рисунок 3.34), которые подтверждают относительную конфигурацию атомов пирролидинового цикла ($2'R^*$, $3'S^*$, $4'S^*$).

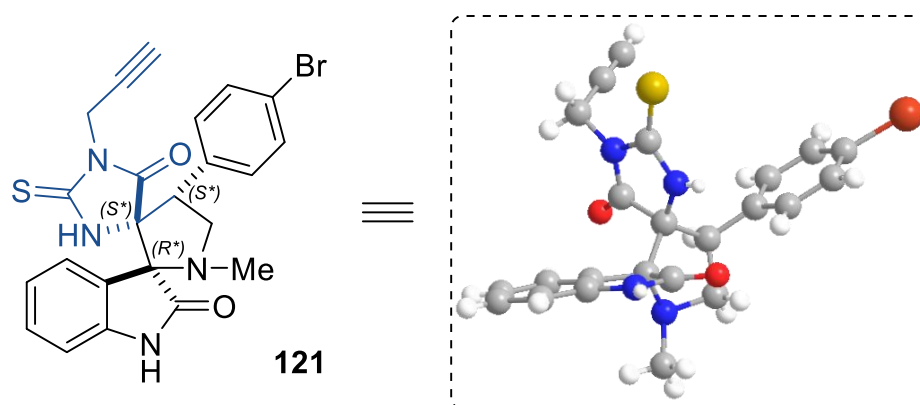
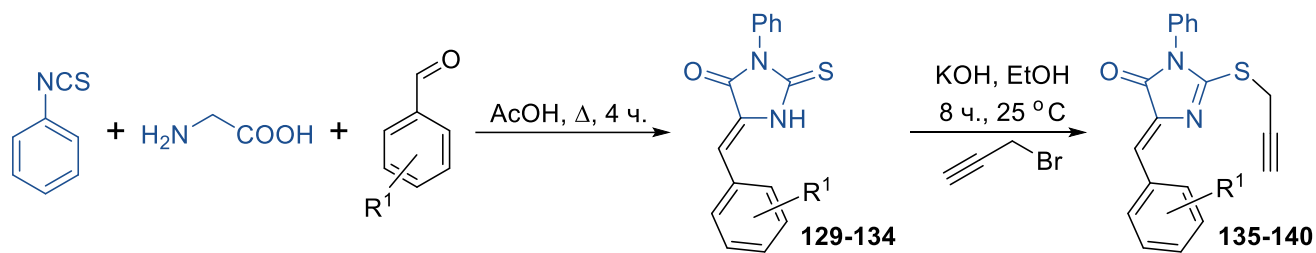
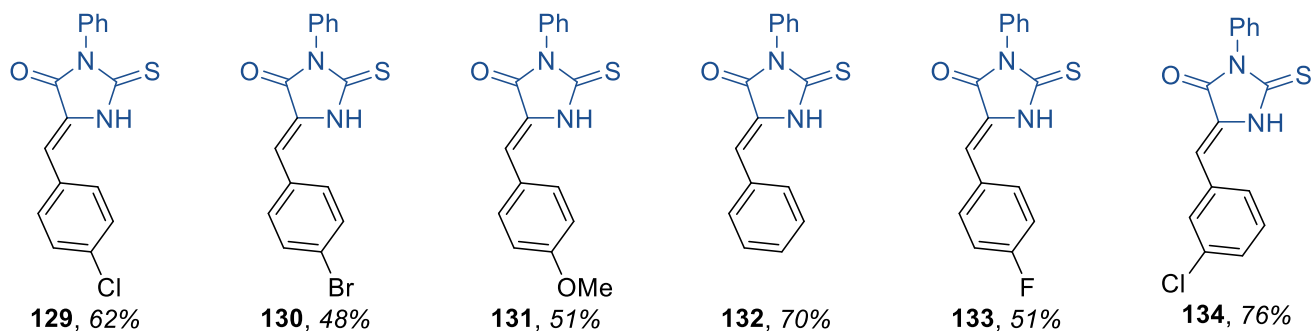
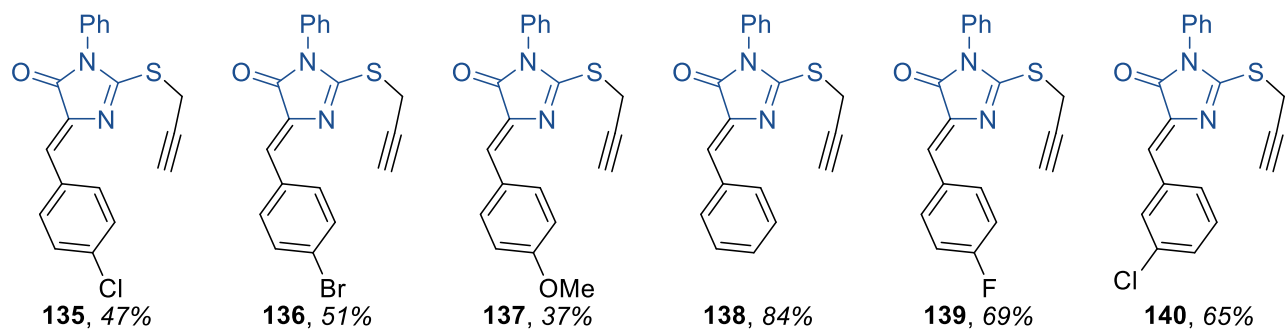


Рисунок 3.34. Молекулярная структура соединения **121**, подтверждённая рентгенографическим исследованием

Диспириноидиноны с пропаргильным заместителем при атоме серы были получены трёхстадийной последовательностью реакций, показанной на Рисунке 3.30. На первой стадии фенилизотиоцианат, глицин и замещённый бензальдегид вводили в трёхкомпонентную реакцию с получением N(3)-фенил-5-арилиден-2-тиогидантоинов **129-134** (Рисунок 3.35). Полученные тиогидантоины **129-134** без дополнительной очистки вводили в реакцию нуклеофильного замещения с пропаргилбромидом в присутствии KOH в этаноле.

5-арилиден-2-тиогидантоины **129-134**S-пропаргил-2-тиогидантоины **135-140****Рисунок 3.35.** Получение S-пропаргил-2 тиогидантоинов **135-140**

Характеристическими сигналами в спектрах ¹H ЯМР полученных 2-тиогидантоинов **135-140** являются сигналы пропаргильного заместителя — дублет -S-CH₂- группы с КССВ 2.0 – 3.0 Гц при 4.1 – 4.3 м.д., и триплет -C≡CH с такой же КССВ при 3.1 – 3.4 м.д. (Рисунок 3.36). Также стоит отметить сигнал винильного протона, который проявляется в виде синглета при 7.0 – 7.1 м.д., что свидетельствует о (Z)-конфигурации двойной C=C связи, согласно данным, изложенным в предыдущих разделах. Дополнительным подтверждением полного протекания реакции служит отсутствие сигнала NH-протона имидазолидинового цикла, который в предшествующих 2-тиогидантоинах **129-134** проявлялся в области 12.4 – 12.6 м.д.

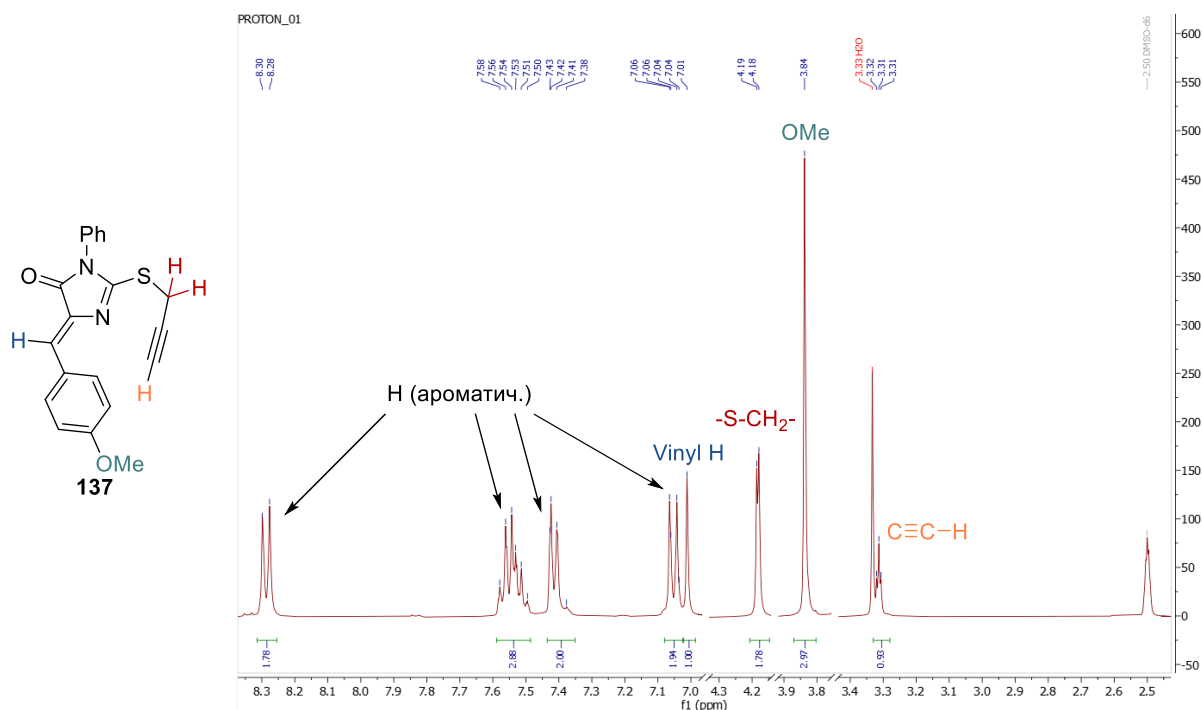


Рисунок 3.36. Спектр ^1H ЯМР соединения **137** с выделенными характеристическими сигналами

Далее 2-тиогидантоины **135-140** вводили в реакцию (3+2)-циклоприсоединения с изатином и саркозином в стандартных условиях, получив диспироиндолиноны **141-147** с удовлетворительными выходами (Рисунок 3.37).

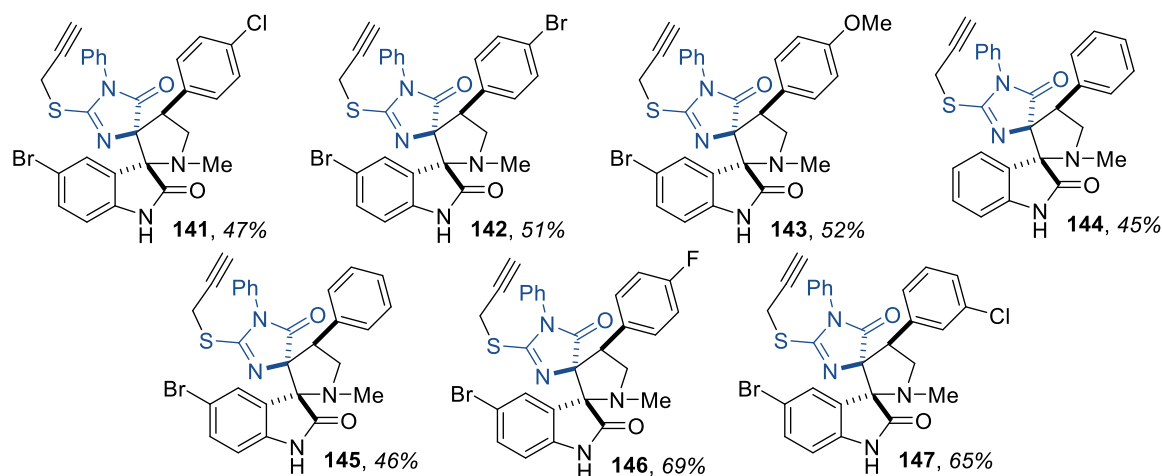
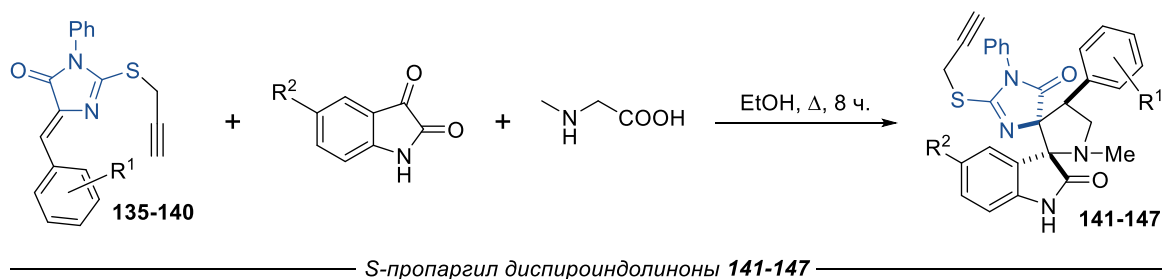


Рисунок 3.37. Получение *S*-пропаргил-диспироиндолинонов **141-147**

Все диспироиндолиноны **141-147** были охарактеризованы методами ЯМР ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии, а также масс-спектрометрии высокого разрешения. Характеристичными пиками

(Рисунок 3.38), помимо сигналов протонов пирролидинового цикла (псевдо-триплеты в области 3.2 – 4.2 м.д.), являются триплет с КССВ 2-2.5 Гц протона при *sp*-гибридизованном атоме углерода, а также дублет дублетов группы $-S-CH_2-$ в области 3.5 – 4.0 м.д. Поскольку в структуре диспироиндолинонов **141-147** имеются хиральные атомы углерода, эти протоны являются диастереотопными и проявляются в спектрах 1H ЯМР в виде спиновой системы АВХ.

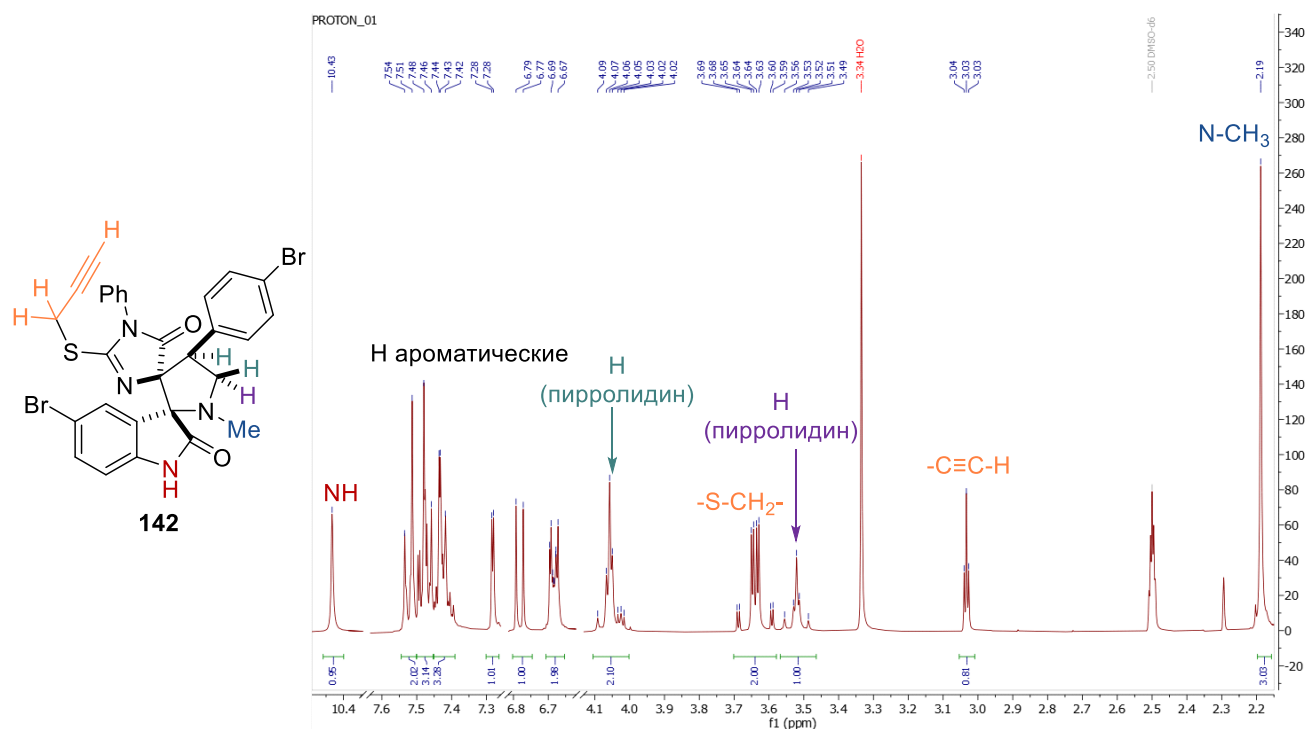


Рисунок 3.38. Спектр 1H ЯМР соединения **142**

Для подтверждения структуры полученных диспироиндолинонов **141-147**, для соединения **142** был зарегистрирован ЯМР спектр HOMODEC и двумерный спектр HSQC, с помощью которых удалось провести полное соотнесение сигналов (Рисунок 3.39).

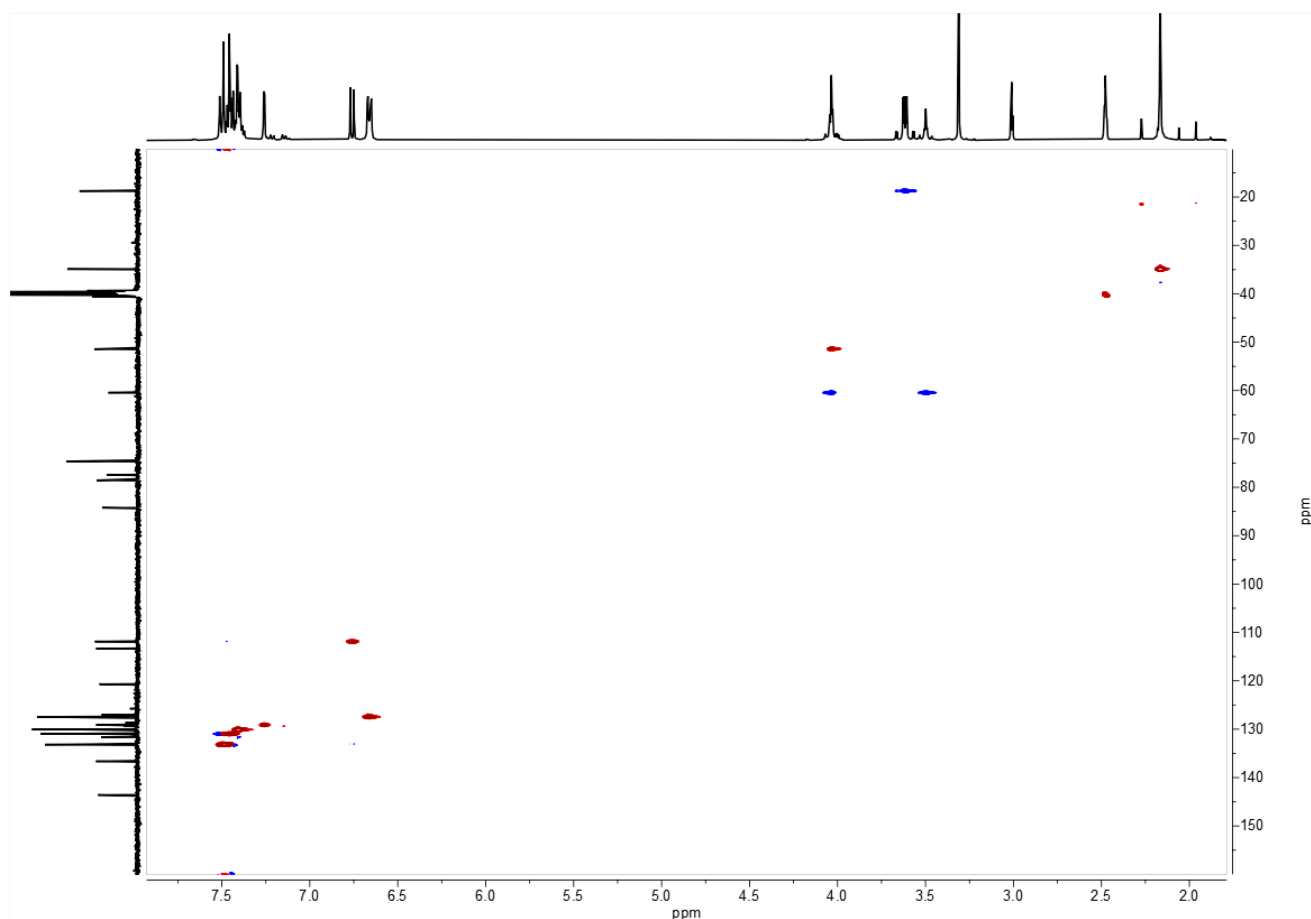


Рисунок 3.39. Спектр HSQC $^1\text{H} - ^{13}\text{C}$ соединения **142**

α -Азидометилглутаримид **153** (3-(азидометил)-пиперидин-2,6-дион) — известный лиганд E3-убиквитинлигазы CRBN [229] — был получен (Рисунок 3.40) по описанным в литературе методикам [65,230,231].

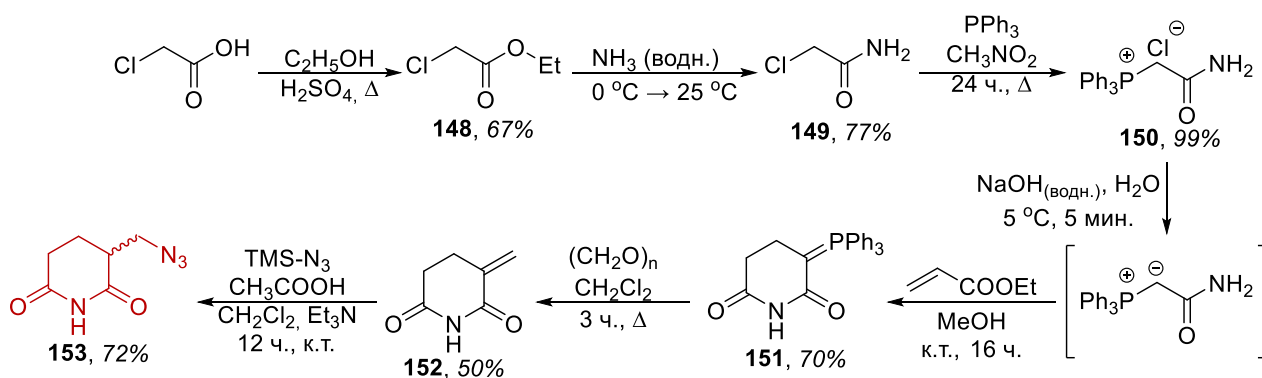


Рисунок 3.40. Получение производного глутаримида **153**

Далее была проведена пробная реакция получения конъюгата, исходя из N-пропаргил диспироиндолинона **120** и производного глутаримида **153** в присутствии CuSO_4 /аскорбата натрия в качестве катализатора в двухфазной системе $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{H}_2\text{O}$ (1:1). Однако спустя 72 ч. после начала реакции конверсии диспироиндолинона не наблюдалось (контроль по ТСХ), как и спустя 7 суток.

В дальнейшем реакция азид-алкинового циклоприсоединения была проведена в присутствии ТБТА (Трис(БензилТриазолилметил)Амин) в качестве катализатора (Рисунок 3.41), который является известным лигандом для реакции медь-катализируемого азид-алкинового циклоприсоединения (CuAAC), стабилизирующим Cu(I) [232,233]. Получение ТБТА проводили по описанным методикам: сначала из пропаргилбромида и аммиака получили с хорошим выходом *трис*-пропаргиламин **154**, который затем ввели в клик-реакцию с 3 эквивалентами бензилазида **155**, полученного предварительно из бензилхлорида.

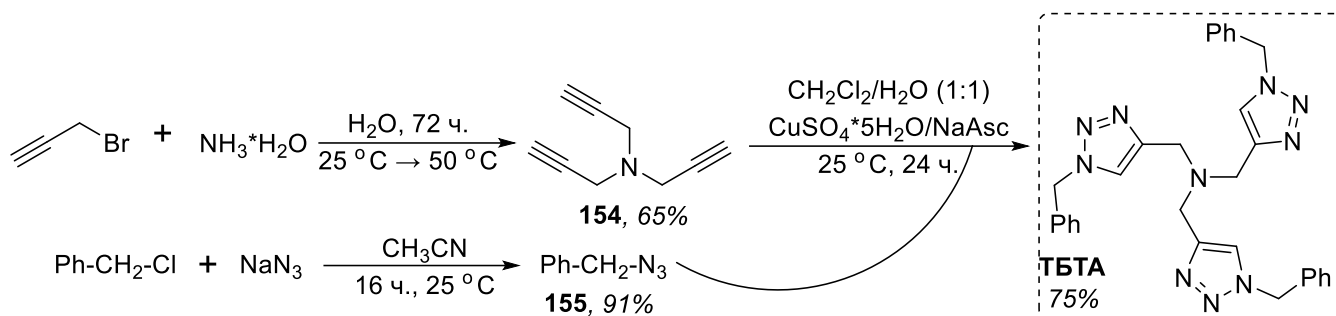
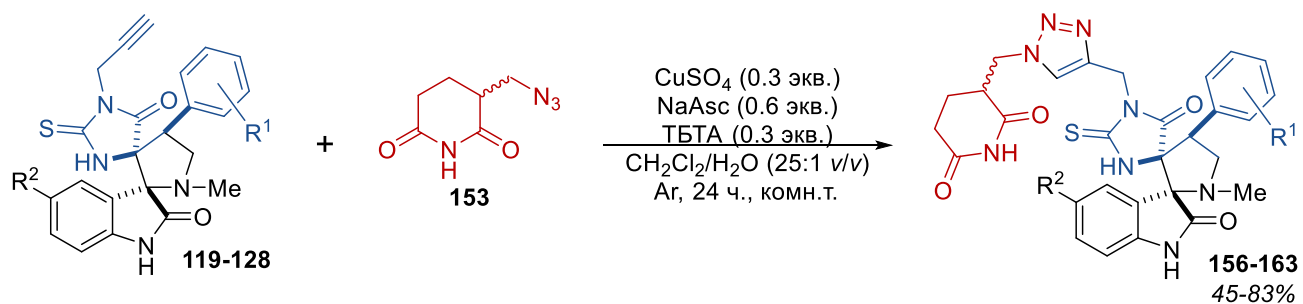


Рисунок 3.41. Получение ТБТА — лиганда для медь-катализируемой реакции азид-алкинового циклоприсоединения

Варьируя условия протекания реакции, количество ТБТА и растворителей, была выявлена оптимальная методика проведения реакции азид-алкинового циклоприсоединения: в реакционную смесь, содержащую 1 экв. терминального алкина **119-128**, **141-147** и 1 экв. α -азидометилглутаримида **153**, добавляли 0.3 экв. ТБТА, 0.3 экв. $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ в 200 мкл деионизованной воды и 0.6 экв. аскорбата натрия в 200 мкл деионизованной воды, перемешивание проводили при комнатной температуре в течение 24 ч. в атмосфере аргона. Таким образом получили 8 конъюгатов диспироиндолинонов и глутаримида структурного типа **VI** (соединения **156-163**, Рисунок 3.42) и 6 конъюгатов диспироиндолинонов и глутаримида структурного типа **VII** (соединения **164-169**, Рисунок 3.43). Все полученные соединения были очищены колоночной хроматографией. Продукты **156-169** были выделены в виде смеси двух диастереомеров, т.к. исходные диспироиндолиноны **119-128**, **141-147** представляют собой смесь двух энантиомеров, а α -азидометилглутаримид **153** также имеет хиральный атом углерода в α -положении карбонильной группы



Конъюгаты диспироиндолинонов с глутаримидом типа VI

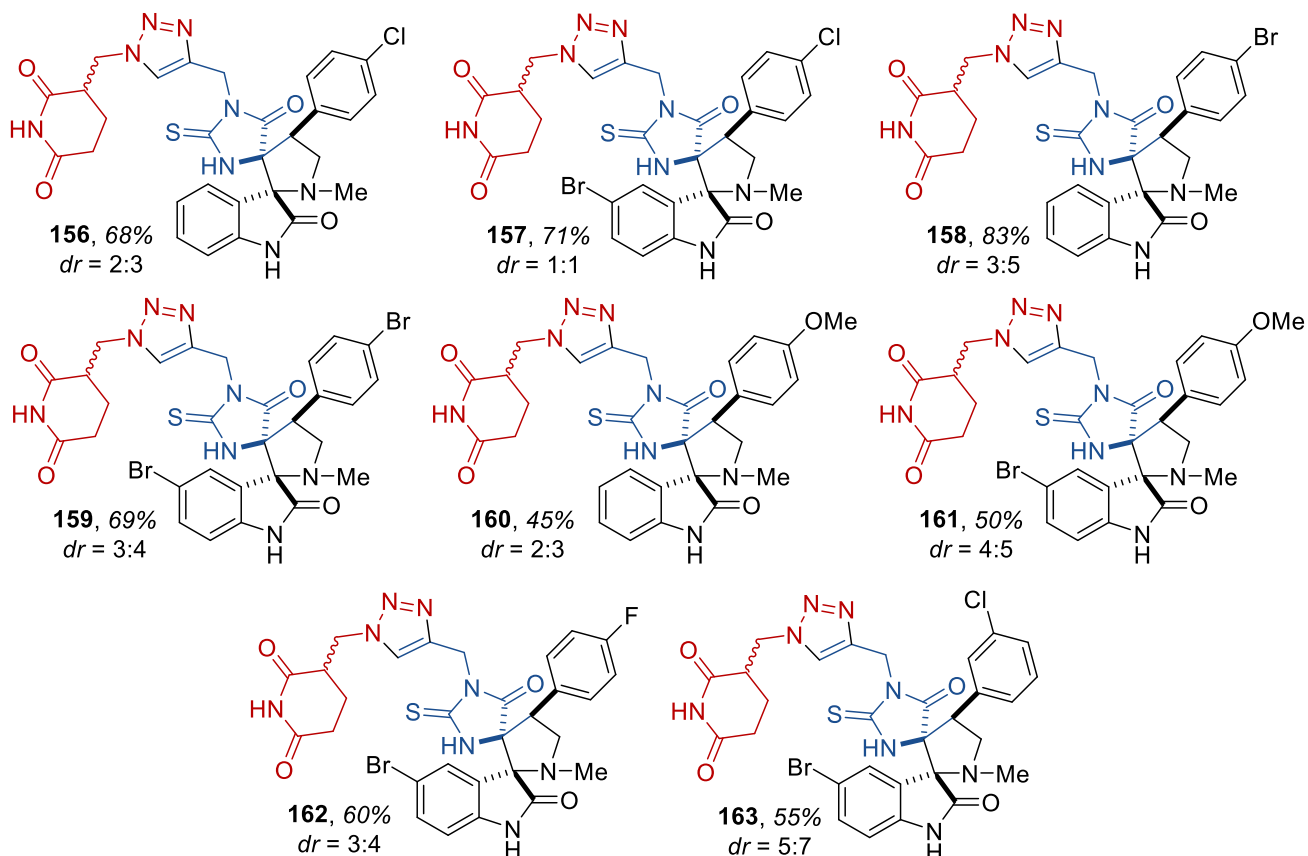
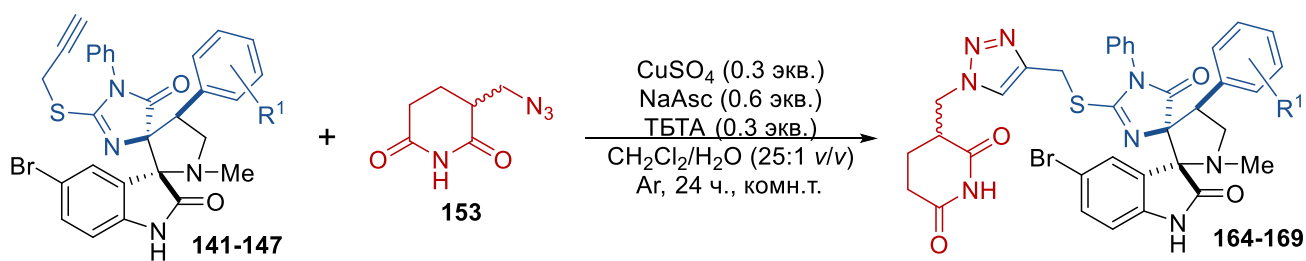


Рисунок 3.42. Получение конъюгатов диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов и глутаримида структурного типа VI

Соединения структурных типов VI и VII имеют в своей структуре триазольный линкер общей длиной в 7 атомов (из которых 4 атома углерода и 3 атома азота), что близко к длине линкера (6 атомов) в соединении 39; проявившем наиболее высокую цитотоксичность в ходе биологических исследований молекул гомо-PROTAC на основе диспироиндолинонов, описанных в разделе 3.1.4.



Конъюгаты диспироиндолинонов с glutarимидом **типa VII**

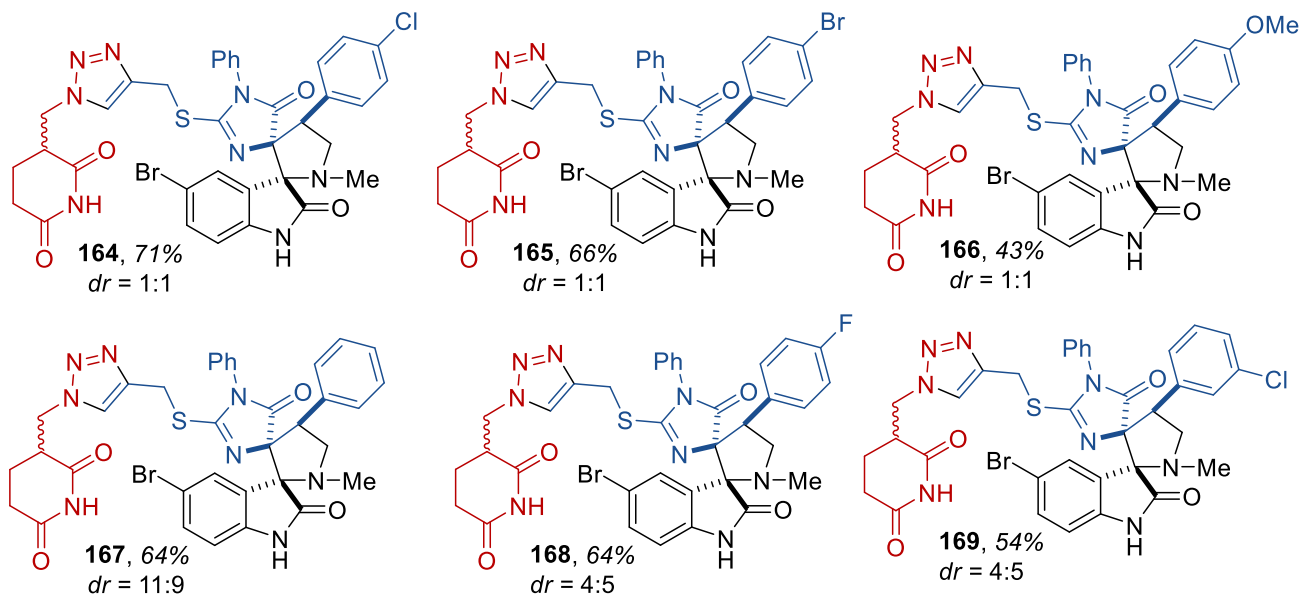


Рисунок 3.43. Получение конъюгатов диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов и glutarимида структурного **типа VII**

Для подтверждения строения полученных соединений структурного **типа VII** на примере соединения **167** были зарегистрированы спектры 2D ЯМР (Рисунок 3.44) — HMBC, HSQC и ^1H - ^1H COSY, что позволило провести полное соотнесение сигналов для каждого из диастереомеров, образующихся в ходе реакции азид-алкинового циклоприсоединения.

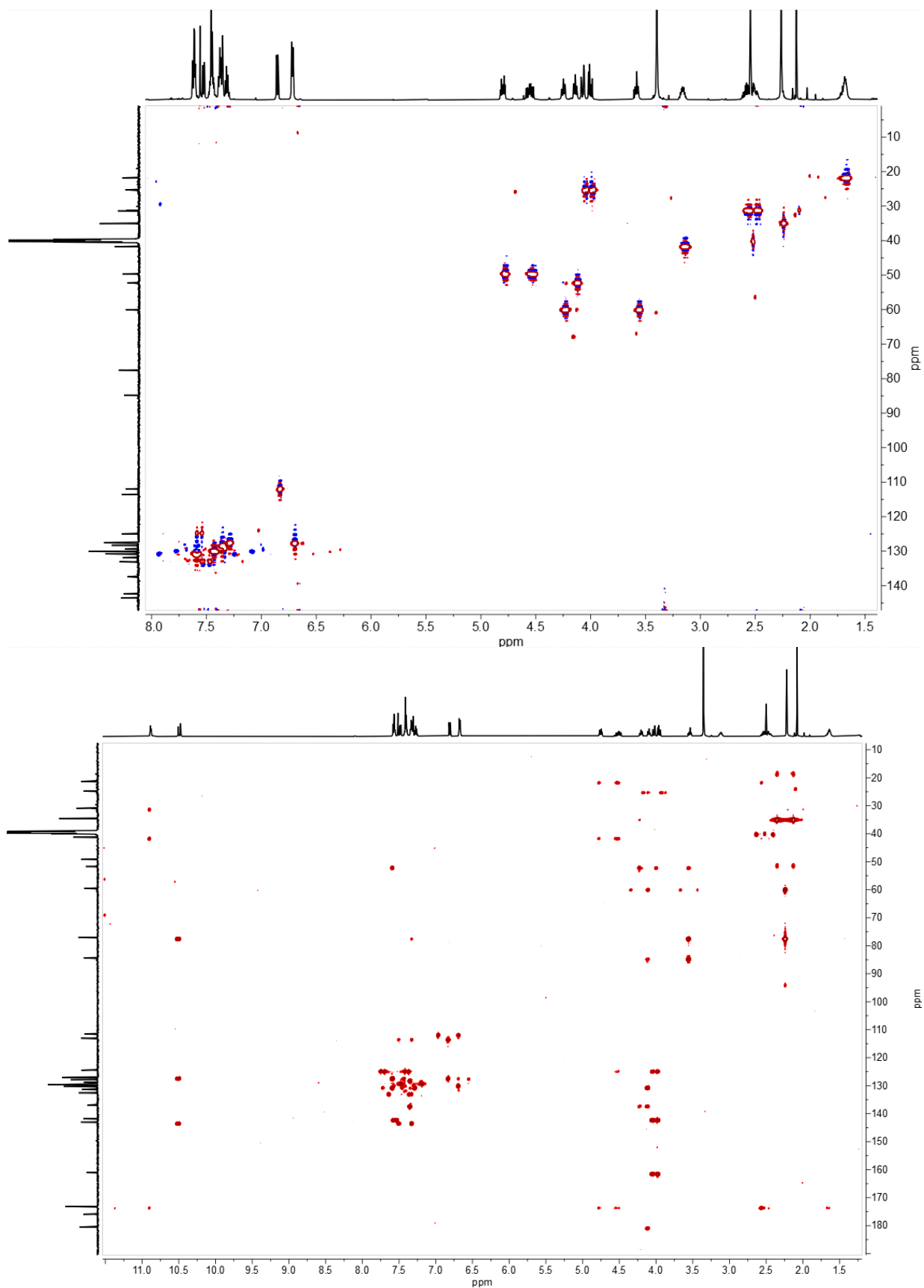


Рисунок 3.44. Двумерные ЯМР спектры соединения **167**: сверху — HSQC, снизу — HMBC

Полученные диспироиндолиноны типов **VI** и **VII**, а также их аналоги — диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны **51-55** (см. раздел 3.1.5), были исследованы на

цитотоксическую активность по отношению к клеточными линиям аденокарциномы толстой кишки человека НСТ116 (p-53-экспрессирующая линия)¹¹. Результаты представлены в таблице 3.4. Из полученных данных видно, что для соединений **типа VI** их цитотоксичность мало отличается от цитотоксичности соответствующих моно-аналогов, однако для некоторых соединений **типа VII** их цитотоксичность превышает аналогичные показатели моно-диспироиндолиноновых аналогов (например, для соединения **157**).

Чтобы определить роль белка p53 в механизме цитотоксического действия, для трёх соединений (**164**, **165** и **51**) были проведены дополнительные испытания на сублинии НСТ116p53^{-/-}, из которой были удалены обе аллели гена p53. Соединения **165** и **51** показали более высокие значения IC₅₀ на клеточной линии с нокаутом p53; это подтверждает, что их цитотоксическое действие связано с влиянием на p53-MDM2 взаимодействие.

Таблица 3.4. Цитотоксичность *in vitro* некоторых полученных конъюгатов диспироиндолинон-пирролидин-имидазолонов и глутаримида в экспериментах на клеточной линии НСТ116 (МТТ тест)

Соединение	Структурный тип	IC ₅₀ , μМ	
		НСТ116	НСТ116KOp53
156	VI	>50	—
157	VI	38 ± 4	—
159	VI	38 ± 4	—
164	VII	10.2 ± 2.3	11.1 ± 2.2
165	VII	15.5 ± 3.4	33 ± 3.2
167	VII	22.5 ± 3.3	—
51	N(1)-незамещённый аналог 159 и 165	13.0 ± 2.3	21.0 ± 3.1
53	N(1)-незамещённый аналог 156	44.3 ± 3.2	—
Аналог 164 без глутаримидного фрагмента [177]		10.5 ± 2.3	12.5 ± 3.2

Также расширенная серия диспироиндолинон-глутаримидных конъюгатов структурных **типов VI** и **VII** была исследована на цитотоксическую активность методом FCST теста на клеточных линиях аденокарциномы лёгкого человека A549, фибробластов лёгкого человека VA13, аденокарциномы молочной железы человека MCF7 и иммортализованной эпителиальной линии молочной железы человека MCF10A. Результаты проведённого исследования представлены в Таблице 3.5¹².

¹¹ Биологические исследования проведены д.м.н. Штилем А.А. (НМИЦ онкологии им. Н.Н. Блохина).

¹² Биологические исследования методом FCST теста здесь и далее проведены к.х.н, с.н.с. Д.А. Скворцовым (химический факультет МГУ имени М.В. Ломоносова).

Таблица 3.5. Цитотоксичность *in vitro* некоторых полученных конъюгатов диспироиндолинонов и глутаримида **типа VI** и **VII** в экспериментах на клеточных линиях A549, VA13, MCF7 и MCF10A (FCST тест)

Соединение	Структурный тип	CC ₅₀ , μM			
		A549	VA13	MCF7	MCF10A
156	VI	> 50	> 50	> 50	> 50
157	VI	> 50	> 50	> 50	> 50
158	VI	> 50	> 50	> 50	> 50
159	VI	> 50	47,27	> 50	> 50
162	VI	> 50	> 50	> 50	> 50
163	VI	> 50	> 50	> 50	> 50
166	VII	> 50	43,89	> 50	> 50
167	VII	14.55	14.84	28.83	15.90
52	N(1)-незамещённый аналог 166	> 50	42.52	19.22	15.90
53	N(1)-незамещённый аналог 158	> 50	> 50	> 50	> 50
54	N(1)-незамещённый аналог 167	> 50	> 50	> 50	> 50
55	N(1)-незамещённый аналог 162	> 50	> 50	43.45	> 50

По результатам биологического исследования можно сделать вывод, что соединения гетеро-PROTAC структурного **типа VI** проявляют близкую или даже более низкую цитотоксичность по сравнению со своими аналогами, не содержащими глутаримидного фрагмента. Вероятно, подобное снижение активности связано с недостаточной конформационной подвижностью триазольного линкера при атоме N(1) имидазолидинового цикла, который не позволяет эффективно сблизить молекулу MDM2 с E3-убиквитинлигазой CRBN.

В то же время, некоторые конъюгаты с глутаримидом структурного **типа VII** с триазольным линкером при атоме серы тиоимидазолонового цикла (соединения **165**, **166**) проявляют более высокую цитотоксичность или селективность на различных клеточных линиях по сравнению со своими моно-диспироиндолиноновыми аналогами. Можно предположить, что подобное соединение фрагмента глутаримида с молекулой диспироиндолинона обеспечивает лучший подход E3-убиквитинлигазы к целевому белку MDM2.

В данном разделе был разработан синтетический подход к молекулам гетеро-PROTAC, содержащим фрагменты диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинона и глутаримида, соединённые триазол-содержащим линкером. С помощью клик-реакции получили 8 конъюгатов

структурного типа VI и 6 конъюгатов структурного типа VII, некоторые из которых были протестированы на цитотоксичность в экспериментах *in vitro*.

3.3. Несимметричные молекулы гомо-PROTAC на основе диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов

Методики получения соединений типа I-IV, описанные в разделе 3.1, позволяют получать только симметричные бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны. Однако данные обзора литературы свидетельствуют, что в некоторых случаях несимметричные соединения гомо-PROTAC могут проявлять более высокую биологическую активность по сравнению со своими симметричными аналогами [153]. Поэтому в данном разделе нами были разработаны способы получения несимметричных молекул двух структурных типов VIII и IX (Рисунок 3.45) ряда бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов с помощью реакции CuAAC.

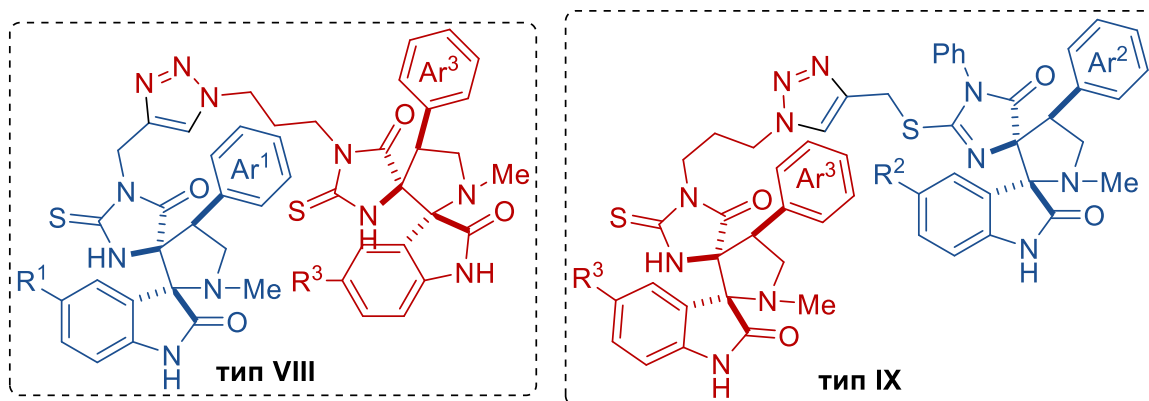


Рисунок 3.45. Общая структура несимметричных молекул гомо-PROTAC на основе диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов

Для получения азидосодержащих диспироиндолинонов была реализована четырёхстадийная синтетическая последовательность исходя из гидробромида 3-бром-1-аминопропана, показанная на Рисунке 3.46. 3-Азидопропанамин-1 **170** получали обработкой 3-бром-1-аминопропана избытком азидата натрия в воде при 80 °С с последующим подщелачиванием раствора для перевода соли в свободное основание. Спектр ¹H ЯМР выделенного соединения **170** совпал с описанным в литературе [234], дополнительная очистка не проводилась.

Далее амин **170** вводили в реакцию с изотиоцианатоэтилацетатом, получая тиомочевину **171**, которую вводили в реакции с замещёнными бензальдегидами, в результате которых получили 2-тиогидантоины **172-173**. Финальной стадией синтеза были реакции (3+2)-циклоприсоединения соединений **172-173** с изатинами и саркозином.

Все диспироиндолиноны **174-177** были получены с хорошим выходом, причём, в отличие от диспироиндолинонов других структурных типов, все продукты удалось успешно очистить перекристаллизацией из этанола; строение полученных соединения **174-177** было подтверждено методами ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии и масс-спектрометрии высокого разрешения.

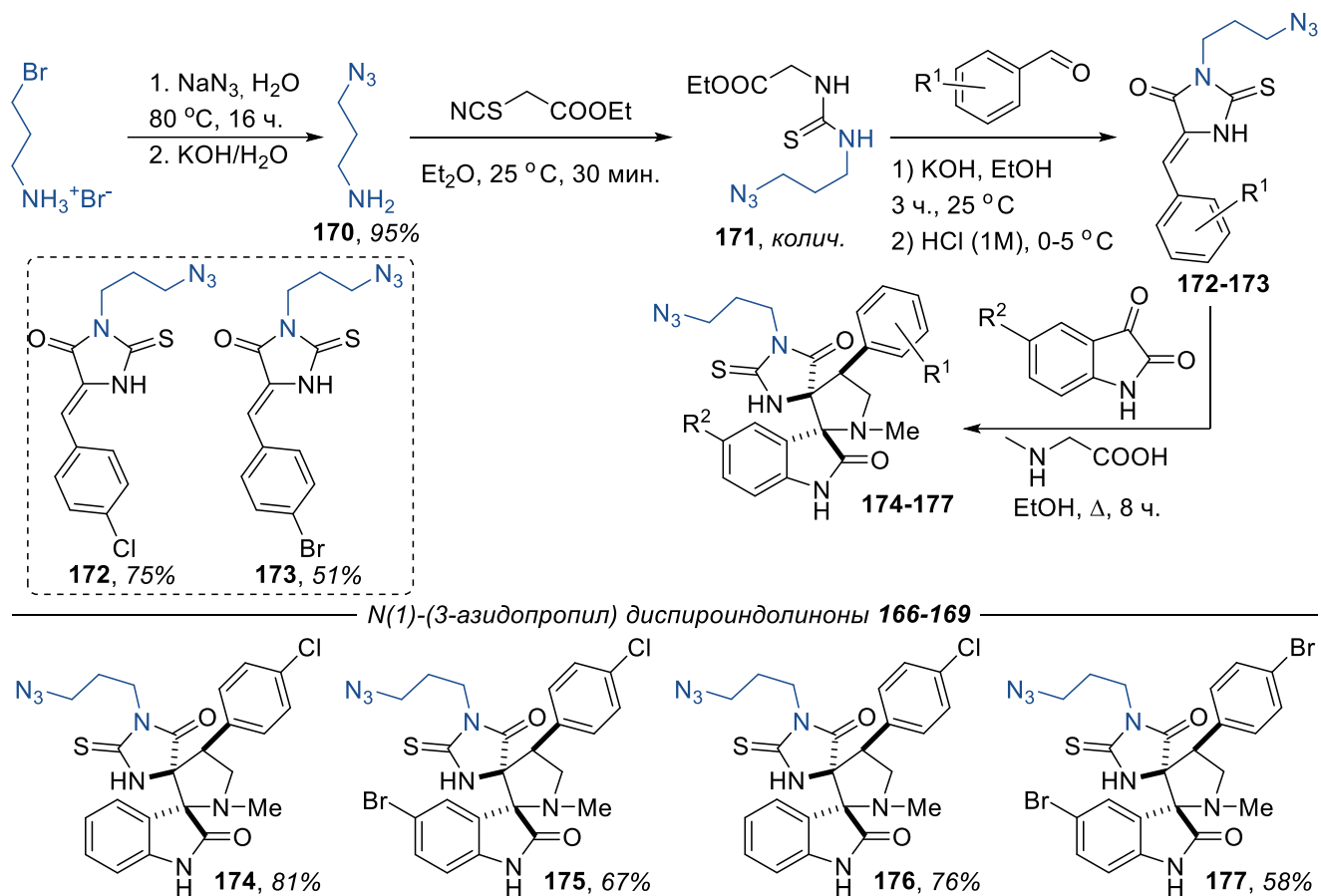


Рисунок 3.46. Получение диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов **167-170** с 3-азидопропильным заместителем при атоме азота N(1) имидазолидина

Характеристичными пиками тиогидантоинов **172-173** являются сигналы NH-протонов имидазолидинового цикла (12.43/12.44 м.д., соответственно), синглет винильного протона при 6.60/6.59 м.д., 2 триплета $-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}_3$ фрагмента — при 3.86 и 3.41 м.д. с КССВ = 6.9 и 6.6 Гц, соответственно, а также мультиплет $-\text{N}-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{CH}_2-\text{N}_3$ в сильнополюсной области спектра при 1.8 – 1.9 м.д..

Для *N*(1)-(3-азидопропил) диспироиндолинонов **174-177** характеристичными сигналами являются (Рисунок 3.47; на примере соединения **174**): синглеты NH-протонов индолинонового и имидазолидинового циклов при 10.59 и 10.06 м.д., соответственно; сигналы трёхспиновой системы протонов пирролидина, один из которых (при 3.40 – 3.45 м.д.) накладывается на сигнал $-\text{N}-\text{CH}_2-$ группы; мультиплеты метиленовых групп $\text{N}_3-\text{CH}_2-\text{CH}_2-$ фрагмента при 2.78 – 2.90 м.д. и 1.28 – 1.40 м.д., а также синглет $\text{N}-\text{CH}_3$ группы при 2.10 м.д.

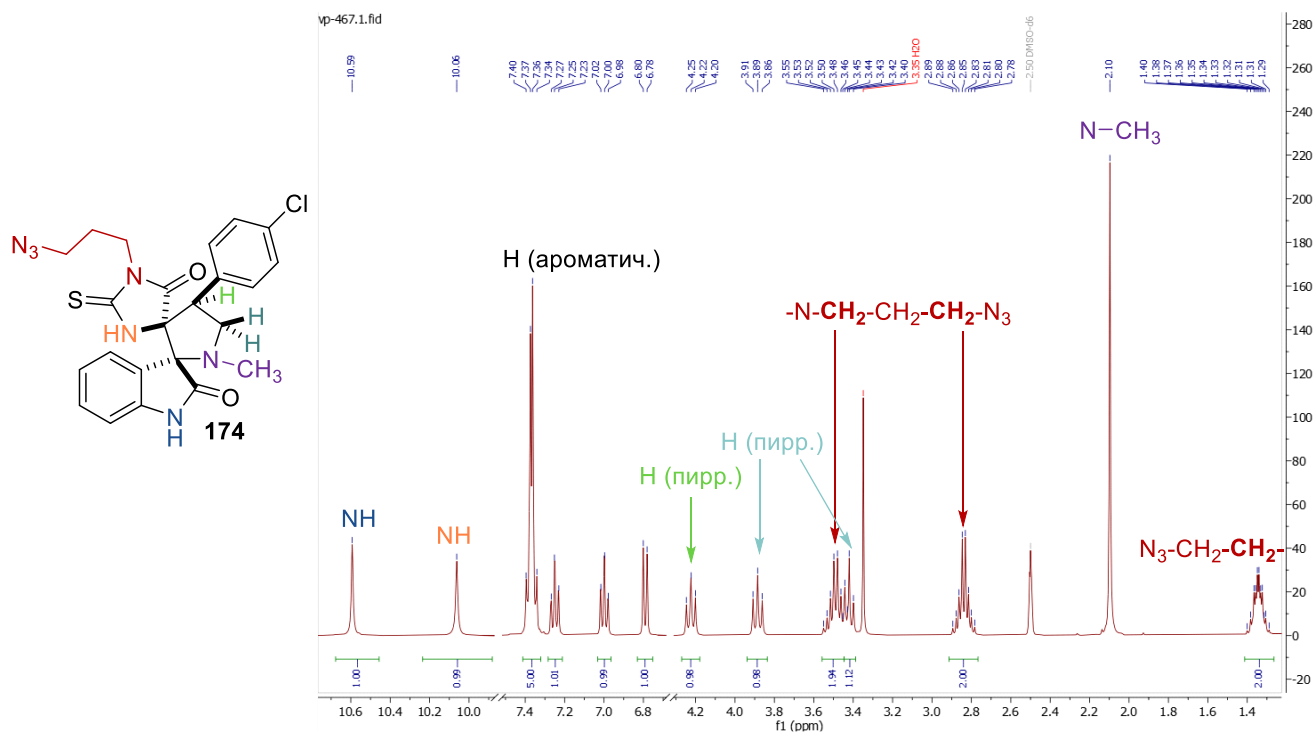


Рисунок 3.47. ¹H ЯМР спектр соединения **174** с выделенными характеристичными сигналами

Получение диспироиндолинонов **177-187** структурных типов **VIII** и **IX** осуществляли по оптимизированной в разделе 3.2.2 методике проведения азид-алкинового циклоприсоединения (Рисунок 3.48).

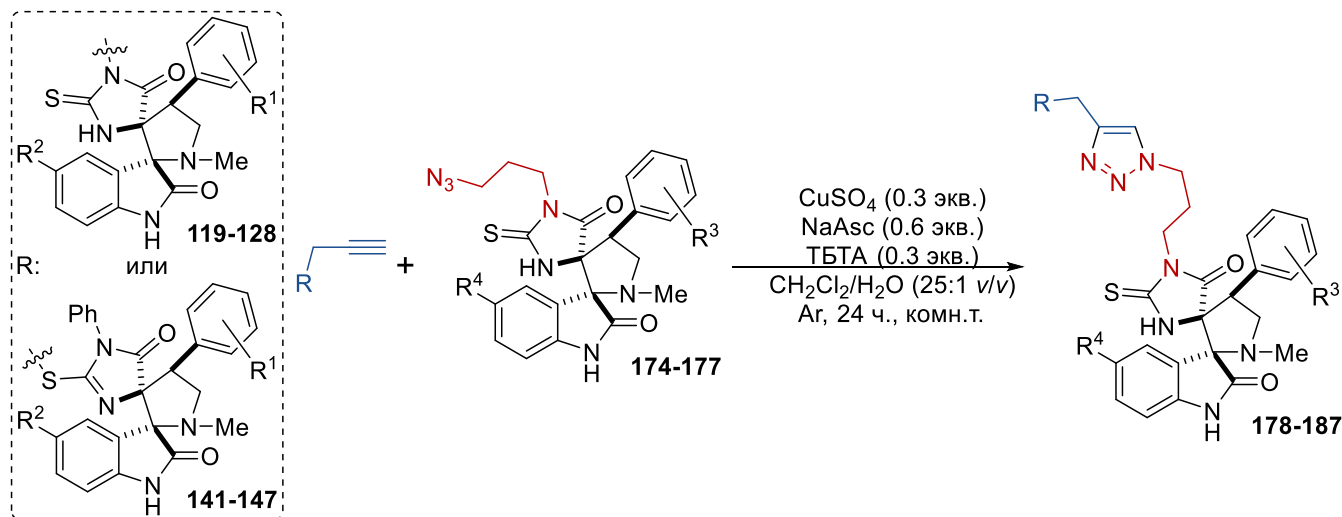


Рисунок 3.48. Получение несимметричных молекул гомо-PROTAC на основе диспиро-индолинон-пирролидин-имидазолидинов типов **VIII** и **IX**

Суммарно получили 8 соединений структурного типа **VIII** и 2 соединения структурного типа **IX** (Рисунок 3.49).

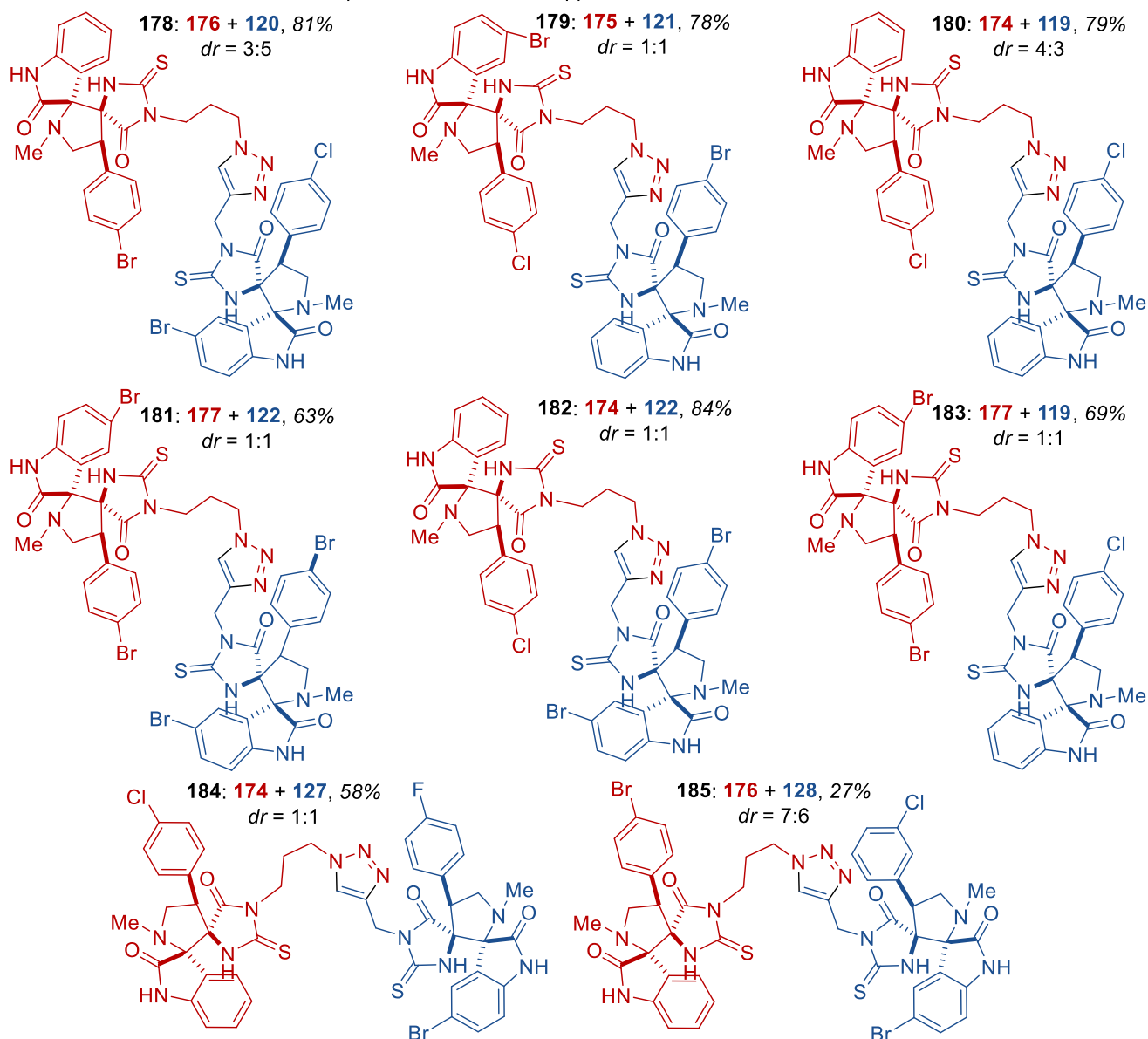
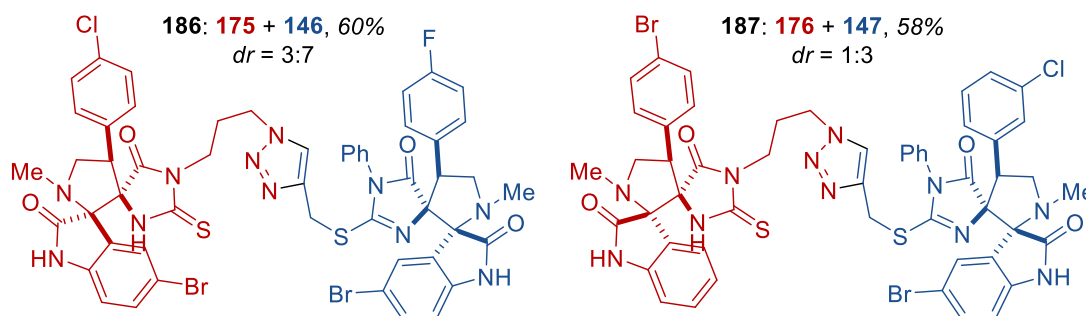
Бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны **типа VIII**Бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны **типа IX**

Рисунок 3.49. Полученные бис-диспироиндолиноны структурных типов VIII и IX. В соединениях указана относительная стереохимия для каждого из индивидуальных фрагментов диспироиндолинонов

Конъюгаты **178-187** были охарактеризованы методами ЯМР ^1H и ^{13}C ЯМР-спектроскопии, а также масс-спектрометрии высокого разрешения. Аналогично гетеро-PROTAC соединениям структурных типов VII и VIII, бис-диспироиндолиноны типов VIII и IX получают в виде пары диастереомеров, соотношение которых определяли по

характеристичному пику протона при N(3) имидазолидина, находящемуся в области 9.5 – 10.0 м.д.

Полученные бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны **типа VIII** были исследованы на цитотоксическую активность методом FCST теста на клеточных линиях аденокарциномы лёгкого человека A549, фибробластов лёгкого человека VA13, аденокарциномы молочной железы человека MCF7 и иммортализованной эпителиальной линии молочной железы человека MCF10A; результаты приведены в таблице 3.6.

Таблица 3.6. Цитотоксичность *in vitro* некоторых полученных конъюгатов диспироиндолинонов и глутаримида **типа VIII** в экспериментах на клеточных линиях A549, VA13, MCF7 и MCF10A (FCST тест)

Соединение	Структурный тип	CC ₅₀ , μM			
		A549	VA13	MCF7	MCF10A
178	VIII	> 50	> 50	> 50	> 50
179	VIII	> 50	> 50	> 50	> 50
180	VIII	> 50	23,71	46,42	> 50
181	VIII	49,54	> 50	> 50	> 50
182	VIII	> 50	> 50	> 50	> 50
183	VIII	> 50	> 50	> 50	> 50
120	Моно-аналог 178	> 50	> 50	21,06	41,29
174	Моно-аналог 180 и 182	> 50	> 50	> 50	> 50
175	Моно-аналог 179	> 50	19,57	13,37	15,82
176	Моно-аналог 181 и 183	> 50	> 50	> 50	> 50
177	Моно-аналог 181 и 183	> 50	17,37	45,95	> 50

Из данных исследования можно сделать вывод, что бис-диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолиноны **типа VIII**, соединённые между собой триазол-содержащим линкером, проявляют меньшую цитотоксическую активность по сравнению со своими моно-диспироиндолиноновыми аналогами, аналогично молекулам с триазольным линкером структурного **типа VI** (раздел 3.2.2), содержащим линкер при атоме N(1) имидазолидинового цикла, которые также оказались неактивными в биологических исследованиях *in vitro*.

Таким образом, на основе диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов была получена библиотека конъюгатов восьми различных структурных типов (**I, III-IX**) – потенциальных молекул выборочного протеолиза белка типов гомо- и гетеро-PROTAS: симметричные бис-диспироиндолиноны с полиметиленовым линкером, конъюгаты диспироиндолинонов с лигандами E3-убиквитинлигазы CRBN с двумя различными типами

линкеров (амидным и триазольным), а также несимметричные бис-диспироиндолиноны с триазол-содержащим линкером.

По результатам биологических исследований полученных соединений наибольшую цитотоксичность проявляют соединения **39** и **165** структурных типов IV и VII, соответственно (Рисунок 3.50). На основании полученных данных, для соединений PROTAC на основе диспиро-тиоимидазолон-пирролидин-индолинонов оптимальной длиной линкера между двумя лигандными фрагментами представляются 6- или 7-атомные линкеры, причём линкер может быть присоединен как по атому N(1) имидазолидинового цикла (для бис-диспироиндолинонов), так и по атому серы этого цикла (для конъюгатов диспироиндолинонов с глутаримидом). Структуры соединений лидеров, показавших наибольшую цитотоксичность и селективность действия при первичном биологическом тестировании, приведены на Рисунке 3.48.

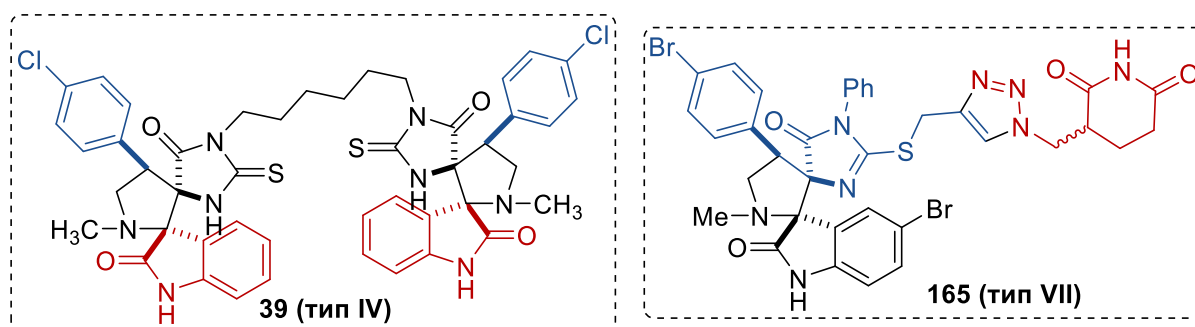


Рисунок 3.50. Структуры соединений-лидеров, полученных в данной работе и проявивших наибольшую цитотоксичность в исследованиях *in vitro*

Разработанные в данной работе синтетические подходы могут быть применены при разработке других соединений типа PROTAC сходных структурных типов (спирооксиндолы, либо другие спиро-сочленённые соединения), а полученные данные о влиянии длины, природы и положения линкера на цитотоксическую активность соединений — при разработке различных молекул PROTAC.

4. Экспериментальная часть

4.1. Общие сведения

Коммерчески доступные исходные реагенты использовали без дополнительной очистки. Использованные растворители абсолютировали согласно стандартным методикам [235,236]. Для препаративной колоночной хроматографии использовали силикагель Fluka 40-63 мкм. Контроль хода реакций и чистоты веществ осуществляли методом тонкослойной хроматографии (ТСХ) на пластинах «Silufol-UV254» с закрепленным слоем силикагеля.

Спектры ЯМР ^1H и ^{13}C регистрировали на спектрометрах Bruker Avance и Agilent 400-MR (частоты: ^1H — 400 МГц, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ — 101 МГц) или на спектрометре Q.One Quantum I – 600 (частоты: ^1H — 600 МГц, $^{13}\text{C}\{^1\text{H}\}$ — 151 МГц). Химические сдвиги (δ , м.д.) приведены относительно сигналов растворителя: для ^1H ЯМР — CDCl_3 (7.27), DMCO-d_6 (2.50); для ^{13}C ЯМР — CDCl_3 (77.16), DMCO-d_6 (39.52). Константы спин-спинового взаимодействия J указаны в Гц.

Масс-спектры высокого разрешения (МСВР) регистрировали на приборе TripleTOF 5600+ (AB Sciex, Канада), оснащенный источником ионизации электрораспылением TurboIon Spray и жидкостным хроматографом LC-30 «Nexera» (Shimadzu, Япония), методом электрораспылительной ионизации (ESI). Измерения выполняли на положительных ионах (напряжение на капилляре –5500V). Диапазон сканирования масс – m/z 100-3000 D, калибровка – внешняя или внутренняя (Electrospray Calibration Solution, Fluka). Вещества вводили в виде растворов в метаноле, скорость потока –3 мкл/мин. Газ-распылитель – азот (4 л/мин), температура интерфейса – 180 °С. Расчет точных масс в (моно)изотропном приближении производили в программах ACD/ChemSketch 12.01 (Advanced Chemistry Development, Inc., Канада) и ChemDraw 15.1.0.144 (PerkinElmer Informatics Inc., США).

Рентгеноструктурное исследование монокристаллов соединений проводили на дифрактометре “StadiVari Pilatus 100K” (STOE & Cie GmbH, Германия) под действием рентгеновского излучения $\text{CuK}\alpha$ [1.5418\AA , генератор – GeniX3D Cu HF с микрофокусной рентгеновской трубкой и многослойным тонкопленочным эллипсоидальным монохроматором FOX3D HF (Xepocs, Франция)]. Сбор данных и обработка зарегистрированных дифракционных пиков проводились в пакете программ X-Area 1.67 (STOE & Cie GmbH, Германия). Интенсивности рефлексов на фреймах, полученных с двумерного детектора, масштабировались с помощью программы LANA (входит в пакет X-Area), которая при 102 обработке дифракционных данных минимизирует разности интенсивностей симметрически эквивалентных рефлексов (метод multi-scan). Структуры решены прямыми методами и

уточнены методом наименьших квадратов относительно F2 в приближении анизотропных тепловых колебаний для неводородных атомов. Позиции атомов водорода у атомов углерода рассчитаны и уточнены по модели наездника в изотропном приближении. Позицию водородных атомов у гетероатомов определяли из синтезов Фурье и уточняли свободно. Визуализацию структур и их обработку производили в программе Diamond 4.5.3 (CRYSTAL IMPACT GbR, Германия).

Температуры плавления веществ определяли в блоке в открытом капилляре.

Цитотоксичность полученной серии ингибиторов белок-белкового взаимодействия p53-MDM2 оценивали с помощью стандартного МТТ-теста с использованием 3-(4,5-диметилтиазол-2-ил)-2,5-дифенил тетразолийбромидом. Для этого рассеивали 4000 клеток на лунку в 130 мкл среды DMEM в 96-луночной планшете и выдерживали в инкубаторе при температуре 37°C с 5% CO₂ в течение первых 24 ч без обработки. Затем в планшеты добавляли 15 мкл разведенных растворов соединения в среде к клеткам (восемь разведений от 50 нМ до 100 мкМ) и инкубировали клетки 72 ч, используя в качестве контроля Nutlin-3a (восемь разведений от 3 нМ до 6 мкмоль). После этого добавляли МТТ с концентрацией 0,5 мг/мл в среде, инкубировали клетки 2 ч. с последующим удалением среды и добавлением 100 мкл ДМСО и измеряли пропускание при 565 нм с использованием планшетного ридера в соответствии с нижеописанной стандартной лабораторной процедурой. IC₅₀ рассчитывали с использованием «GraphPad Prism 6» (GraphPad Software, Inc., San Diego, CA).

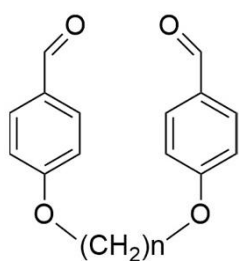
Для роста клеток и обнаружения флуоресценции использовались 384-луночные поликарбонатные планшеты (Greiner #781182). В лунку F12 высевали 400 и 800 клеток A549_EGFP и VA13_Kat соответственно, а в лунку сокультуры MCF7'_EGFP/MCF10A_Kat — 500 и 700 клеток MCF7'_EGFP/MCF10A_Kat соответственно. После 18 часов роста к клеткам добавляли исследуемое вещество, разведенное в культуральной среде. Соединения тестировались при шести концентрациях с разведениями: 50, 12,5, 2,5, 0,5, 0,125 и 0,025 мг/л. Или, при низкой растворимости препаратов в среде — при 0,5, 0,125, 0,025, 0,005, 0,00125, 0,00025 максимальной растворимости в среде. Затем клетки инкубировали в течение 72 часов при 37 °C и 5% CO₂ и сканировали на TYRHOON FLA950 (GEHealthcare). Для получения изображений клеток использовался лазер с длиной волны 473 нм (с напряжением, установленным на 600 В) и эмиссионный фильтр 520–540 нм для eGFP; для получения изображений Katushka2S использовался лазер с длиной волны 635 нм (850 В) и фильтр ≥665 нм. Использовалось максимальное разрешение сканера 10 мкм. Обработка изображений планшетов проводилась с помощью редактора ImageJ (<https://imagej.nih.gov/ij/>). Для количественной оценки интенсивности флуоресценции и, соответственно, числа клеток использовался плагин

ImageJ «ColonyArea». Полуингибирование выживаемости клеток определялось линейной аппроксимацией. Соединение считалось селективно токсичным, если оно вызывало увеличение выживаемости нераковых клеток в два или более раза по сравнению с выживаемостью опухолевых клеток. Количество разведений, в которых соединение проявляло селективную цитотоксичность, называлось рейтингом селективности (SR). SR использовался в качестве основного критерия селективности в анализах FCST.

4.2. Синтез соединений

4.2.1. Синтез диспиропроизводных с линкером между атомами кислорода арильного заместителя (тип I)

Синтез бис-альдегидов 1-4



4-гидроксибензальдегид (2 экв.), соответствующий α,ω -дибромалкан (1 экв.) и карбонат калия (3 экв.) растворяли в ацетонитриле (5 мл на 1 ммоль бензальдегида), после чего реакционную смесь кипятили при перемешивании в течение 6 часов. После окончания реакции (контроль по ТСХ) реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, растворитель упаривали, а полученный твёрдый остаток растворяли в воде (50 мл) и экстрагировали этилацетатом (3x50 мл). Органические фазы объединяли, промывали насыщенным водным раствором NaCl, сушили над Na₂SO₄ и упаривали растворитель при пониженном давлении. Полученный твердый остаток очищали с помощью флэш-хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 1:1) с получением вещества белого цвета.

4,4'-[бутан-1,4-диилбис(окси)]добензальдегид (1) [220]

Из 1.221 г 4-гидроксибензальдегида (10 ммоль, 2 экв.), 1.08 г (5 ммоль, 1 экв.) 1,4-дибромбутана и 2.07 г карбоната калия (15 ммоль, 3 экв.) получили 1.01 г соединения **1** в виде белого порошка. Выход 67%. $R_f = 0.5$ (ПЭ/ЭА 1:1).

¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц, δ , м.д.): 9.85 (с., 2H, C(O)H), 7.91 – 7.79 (м., 4H, аромат.), 7.18 – 7.08 (м., 4H, аромат.), 4.15 (т., $J = 3.3$ Гц, 4H, -OCH₂-), 1.95 – 1.90 (м., 4H, -(CH₂)₂-).

6,6'-[гексан-1,6-диилбис(окси)]добензальдегид (2) [237]

Из 1.221 г 4-гидроксибензальдегида (10 ммоль, 2 экв.), 1.22 г (5 ммоль, 1 экв.) 1,6-дибромгексана и 2.07 г карбоната калия (15 ммоль, 3 экв.) получили 1.208 г соединения **2** в виде белого порошка. Выход 74%. $R_f = 0.5$ (ПЭ/ЭА 1:1).

^1H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц, δ , м.д.): 9.86 (с., 2H, C(O)H), 7.83 – 7.80 (м., 4H, аромат.), 7.03 – 6.97 (м., 4H, аромат.), 4.04 (т., $J = 6.4$ Гц, 4H, -OCH₂-), 1.88 – 1.81 (м., 4H, -(CH₂)₄-), 1.65 – 1.55 (м., 4H, -(CH₂)₄-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₀H₂₂O₄ + H]⁺: 327.160; найдено 327.1592.

8,8'-[октан-1,8-диилбис(окси)]добензальдегид (3) [238]

Из 1.221 г 4-гидроксибензальдегида (10 ммоль, 2 экв.), 1.36 г (5 ммоль, 1 экв.) 1,8-дибромоктана и 2.07 г карбоната калия (15 ммоль, 3 экв.) получили 1.40 г соединения **3** в виде белого порошка. Выход 79%. $R_f = 0.45$ (ПЭ/ЭА 1:1).

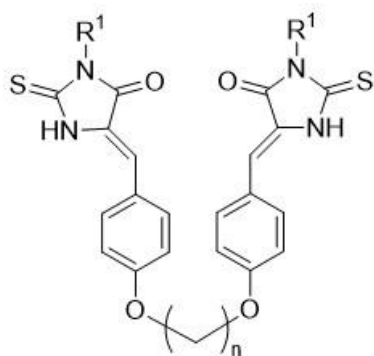
^1H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц, δ , м.д.): 9.85 (с., 2H), 7.90 – 7.78 (м., 4H, аромат.), 7.17 – 7.04 (м., 4H, аромат.), 4.07 (т., $J = 6.5$ Гц, 4H, -OCH₂-), 1.81 – 1.65 (м., 2H, -(CH₂)₆-), 1.51 – 1.25 (м., 10H, -(CH₂)₆-).

10,10'-[декан-1,10-диилбис(окси)]добензальдегид (4) [239]

Из 1.221 г 4-гидроксибензальдегида (10 ммоль, 2 экв.), 1.50 г (5 ммоль, 1 экв.) 1,10-дибромдекана и 2.07 г карбоната калия (15 ммоль, 3 экв.) получили 1.74 г соединения **4** в виде белого порошка. Выход 91%. $R_f = 0.4$ (ПЭ/ЭА 1:1).

^1H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ , м.д.): 9.86 (с., 2H), 7.88 – 7.84 (м., 4H, аромат.), 7.15 – 7.10 (м., 4H, аромат.), 4.07 (т., $J = 6.5$ Гц, 4H, -OCH₂-), 1.80 – 1.65 (м., 4H, -(CH₂)₈-), 1.46 – 1.37 (м., 4H, -(CH₂)₈-), 1.35 – 1.24 (м., 8H, -(CH₂)₈-).

Синтез бис-5-арилиден-2-тиогидантоинов 5-10



Метод А: 2-Тиогидантоин или 3-фенил-2-тиооксо-4-имидазолидинон (2 экв.) и соответствующий бензальдегид **1-4** (1 экв.) растворяли в этиловом спирте (10 мл на 1 ммоль бис-бензальдегида), а затем добавляли твёрдый гидроксид калия (6 экв.). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 6-8 часов. После окончания реакции добавляли 1М раствор соляной кислоты (20 мл), полученный осадок жёлтого цвета отфильтровывали и высушивали. Очищали твёрдый остаток с помощью колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) или перекристаллизацией из этилового спирта.

Метод Б: Соответствующий бензальдегид **1-4** (1.1 экв.), глицин (2.2 экв.) и фенилизотионат (2 экв.) растворяли в ледяной уксусной кислоте (30 мл). Смесь кипятили 2-3 часа, контролируя протекание реакции с помощью ТСХ (система ПЭ/ЭА 3:1). После

завершения реакции реакцию смесь выливали в избыток воды и фильтровали образующийся осадок, промывая затем холодной водой. При необходимости вещество дополнительно перекристаллизовывали из этанола или уксусной кислоты, либо очищали с помощью колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 3:1).

(5Z,5'Z)-5,5'-(((бутан-1,4-диилбис(окси))бис(4,1-фенилен))бис(метилен))бис(3-фенил-2-тиоксоимадазол-4-он) (5)

По методу **Б** из 164 мг бис-бензальдегида **1** (0.55 ммоль, 1.1 экв.), 135 мг фенилизотионата (1 ммоль, 2 экв.) и 83 мг глицина (1.1 ммоль, 2.2 экв.) получили после перекристаллизации из этанола соединение **5** в виде жёлтого порошка массой 98 мг. Выход 29%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.52 (с., 2H, NH(1)), 7.83 (д., J = 8.6 Гц, 4H, аромат.), 7.55 – 7.42 (м., 6H, аромат.), 7.40 – 7.36 (м., 4H, аромат.), 7.04 (д., J = 8.6 Гц, 4H, аромат.), 6.68 (с., 2H, -C=CH-), 4.14 (т., J = 8.8 Гц, 4H, -OCH₂-), 1.99 – 1.83 (м., 4H, -(CH₂)₂-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₃₆H₃₀N₄O₄S₂ – H]⁻: 645.1625; найдено 645.1634.

(5Z,5'Z)-5,5'-(((гексан-1,6-диилбис(окси))бис(4,1-фенилен))бис(метилен))бис(2-тиоксоимадазол-4-он) (6)

По методу **А** из 180 мг бис-бензальдегида **2** (0.55 ммоль, 1 экв.), 116 мг 2-тиогидантоина (1 ммоль, 1.8 экв.) и 336 мг гидроксида калия (6 ммоль, 11 экв.) получили после перекристаллизации из уксусной кислоты соединение **6** в виде светло-оранжевого порошка массой 158 мг. Выход 55 %.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.31 (с., 2H, NH(1)), 12.08 (с., 2H, NH(3)), 7.79 – 7.67 (м., 4H, аромат.), 7.04 – 6.89 (м., 4H, аромат.), 6.46 (с., 2H, -C=CH-), 4.04 (т., J = 6.4 Гц, 4H, -OCH₂-), 1.75 (т., J = 6.7 Гц, 4H, -(CH₂)₄-), 1.60 – 1.34 (м., 4H, -(CH₂)₄-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₆H₂₆N₄O₄S₂ + Na]⁺: 545.1288; найдено 545.1288.

(5Z,5'Z)-5,5'-(((гексан-1,6-диилбис(окси))бис(4,1-фенилен))бис(метилен))бис(3-фенил-2-тиоксоимадазол-4-он) (7)

По методу **А** из 180 мг бис-бензальдегида **2** (0.55 ммоль, 1.1 экв.), 192 мг 3-фенил-2-тиоксо-4-имидазолидинона (1 ммоль, 2 экв.) и 168 мг гидроксида калия (3 ммоль, 6 экв.) получили после перекристаллизации из этанола соединение **7** в виде жёлтого порошка массой 182 мг. Выход 54%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.53 (с., 2H, NH(1)), 7.88 – 7.75 (м., 4H, аромат.), 7.57 – 7.41 (м., 6H, аромат.), 7.40 – 7.33 (м., 4H, аромат.), 7.06 – 6.98 (м., 4H, аромат.), 6.67 (с., 2H, -C=CH-), 4.07 (т., *J* = 6.4 Гц, 4H, -OCH₂-), 1.86 – 1.68 (м., 4H, -(CH₂)₄-), 1.58 – 1.40 (м., 4H, -(CH₂)₄-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₃₈H₃₄N₄O₄S₂ + H]⁺: 675.2094; найдено 675.2099.

(5Z,5'Z)-5,5'-(((октан-1,8-диилбис(окси))бис(4,1-фенилен))бис(метилен))бис(2-тиоксоимадазол-4-он) (8)

По методу А из 177 мг бис-бензальдегида **3** (0.5 ммоль, 1 экв.), 116 мг 2-тиогидантоина (1 ммоль, 2 экв.) и 168 мг гидроксида калия (3 ммоль, 6 экв.) получили после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) соединение **8** в виде жёлтого порошка массой 196 мг. Выход 71%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.30 (с., 2H, NH(1)), 12.07 (с., 2H, NH(3)), 7.78 – 7.66 (м., 4H, аромат.), 7.02 – 6.88 (м., 4H, аромат.), 6.46 (с., 2H, -C=CH-), 4.02 (т., *J* = 6.5 Гц, 4H, -OCH₂-), 1.75 – 1.71 (м., 6H, -(CH₂)₆-), 1.53 – 1.27 (м., 6H, -(CH₂)₆-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₈H₃₀N₄O₄S₂ + Na]⁺: 573.1601; найдено 573.1606.

(5Z,5'Z)-5,5'-(((октан-1,8-диилбис(окси))бис(4,1-фенилен))бис(метилен))бис(3-фенил-2-тиоксоимадазол-4-он) (9)

По методу Б из 195 мг бис-бензальдегида **3** (0.55 ммоль, 1.1 экв.), 135 мг фенилизотиоцианата (1 ммоль, 2 экв.) и 83 мг глицина (1.1 ммоль, 2.2 экв.) получили после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) соединение **9** в виде жёлтого порошка массой 169 мг. Выход 48%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.50 (с., 2H, NH(1)), 7.90 – 7.76 (м., 8H, аромат.), 7.55 – 7.43 (м., 6H, аромат.), 7.10 (дд., *J* = 8.9, 1.9 Гц, 4H, аромат.), 6.65 (с., 2H, -C=CH-), 4.11 – 3.99 (м., 4H, -OCH₂-), 1.82 – 1.69 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 1.50 – 1.31 (м., 8H, -(CH₂)₆-).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 206.46, 177.94, 163.91, 159.93, 133.41, 132.40, 131.81, 129.49, 128.80, 128.71, 124.32, 113.62, 68.03, 67.68, 30.68, 28.73, 28.67, 28.46, 25.42, 25.35.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₄₀H₃₈N₄O₄S₂ + Na]⁺: 725.2232; найдено 725.2230.

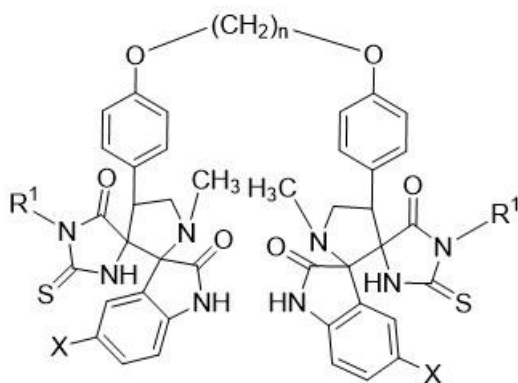
(5Z,5'Z)-5,5'-(((декан-1,10-диилбис(окси))бис(4,1-фенилен))бис(метилен))бис(3-фенил-2-тиоксоимадазол-4-он) (10)

По методу **Б** из 210 мг бис-бензальдегида **4** (0.55 ммоль, 1.1 экв.), 135 мг фенилизотиоцианата (1 ммоль, 2 экв.) и 83 мг глицина (1.1 ммоль, 2.2 экв.) получили после перекристаллизации из этилового спирта соединение **10** в виде жёлтого порошка массой 212 мг. Выход 58%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.53 (с., 2H, NH(1)), 7.87 – 7.75 (м., 8H, аромат.), 7.48 (т., J = 4.5 Гц, 4H, аромат.), 7.13 – 7.05 (м., 6H, аромат.), 6.65 (с., 2H, -C=CH-), 4.11 – 3.96 (м., 4H, -OCH₂-), 1.75 – 1.71 (м., 8H, -(CH₂)₈-), 1.38 – 1.22 (м., 8H, -(CH₂)₈-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₄₂H₄₂N₄O₄S₂ + CH₃OH]⁺: 763.2982; найдено 763.2991.

Синтез бис-диспиروпроизводных с линкером между атомами кислорода **11-16**



К кипящему раствору тиогидантоина **5-10** (1 экв.) и саркозина (6-8 экв.) в этаноле добавляли соответствующий изатин (4-6 экв.) и кипятили смесь в течение 12-14 часов. Контроль протекания реакции проводили с помощью ТСХ. После завершения реакции и охлаждения раствора до комнатной температуры к нему добавляли двухкратный избыток воды (по отношению к этанолу) и наблюдали выпадение осадка, который затем фильтровали. Очищали с помощью колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА1:1 или перекристаллизацией из этилового спирта).

5''-бром-4'-{4-(4-{4-(5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-1-фенилдиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-4'-ил)фенокси}бутоксифенил}-1'-метил-2-тиоксо-1-фенилдиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (11)

Из 65 мг бис-тиогидантоина **5** (0.1 ммоль, 1 экв.), 71 мг саркозина (0.8 ммоль, 8 экв.) и 136 мг 5-бромизатина (0.6 ммоль, 6 экв.) получили после колоночной хроматографии (элюент — градиентная CH₂Cl₂/CH₃OH 50:1 → 10:1) 65 мг соединения **11** в виде светло-жёлтого порошка. Выход 56%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.79 (с., 2H, NH-индолинон), 9.84 (с., 2H, NH(3)-имидазолидин), 8.04 (д., J = 8.5 Гц, 2H, аромат.), 7.73 (д., J = 8.2 Гц, 4H, аромат.), 7.61 – 7.21 (м., 6H, аромат.), 7.10 (д., J = 8.4 Гц, 2H, аромат.), 6.95 (д., J = 8.3 Гц, 6H, аромат.), 6.87 – 6.69 (м., 2H, аромат.), 6.41 (с., 2H, аромат.), 4.06 (т., J = 5.8 Гц, 2H, пирролидин), 4.00 – 3.95 (м., 4H, -OCH₂-), 3.93 – 3.84 (м., 2H, пирролидин), 2.08 (с., 6H, N-CH₃), 1.74 – 1.68 (м., 4H, -(CH₂)₂-). Один из

отсутствующих в описании сигналов СН-протонов центрального пирролидинового цикла (триплет) накладывается на остаточный сигнал воды в ДМСО (~3.3. м.д.).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{56}H_{48}Br_2N_8O_6S_2 + Na]^+$: 1173.1403; найдено 1173.1407.

5''-бром-4'-{4-([6-(4-(5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-4'-ил)фенокси)гексил]окси)фенил}-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (12)

Из 52 мг бис-тиогидантоина **6** (0.1 ммоль, 1 экв.), 71 мг саркозина (0.8 ммоль, 8 экв.) и 136 мг 5-бромизатина (0.6 ммоль, 6 экв.) после перекристаллизации из этанола получили 38 мг соединения **12** в виде бежевого порошка. Выход 37%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.78 (с., 2H, NH-индолинон), 10.56 (с., 2H, NH(1)-имидазолидин), 9.86 (с., 2H, NH(3)-имидазолидин), 7.88 – 7.82 (м., 2H, аромат.), 7.63 – 7.58 (м., 2H, аромат.), 7.52 – 7.45 (м., 2H, аромат.), 7.37 – 7.31 (м., 2H, аромат.), 7.11 (дт., J = 9.2, 2.6 Гц, 2H, аромат.), 6.88 (д., J = 8.6 Гц, 2H, аромат.), 6.66 – 6.55 (м., 2H, аромат.), 4.27 (т., J = 9.1 Гц, 2H, пирролидин), 4.08 (т., J = 6.2 Гц, 2H, пирролидин), 3.98 – 3.86 (м., 4H, -OCH₂-), 3.45 (т., J = 8.7 Гц, 2H, пирролидин), 2.20 (с., 6H, N-CH₃), 1.79 – 1.68 (м., 4H, -(CH₂)₄-), 1.52 – 1.40 (м., 4H, -(CH₂)₄-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{46}H_{44}Br_2N_8O_6S_2 + H]^+$: 1027.1270; найдено 1027.1276.

5''-бром-4'-{4-([6-(4-{5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-1-фенилдиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-4'-ил}фенокси)гексил]окси)-фенил}-1'-метил-2-тиоксо-1-фенилдиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (13)

Из 68 мг бис-тиогидантоина **7** (0.1 ммоль, 1 экв.), 53 мг саркозина (0.6 ммоль, 6 экв.) и 91 мг 5-бромизатина (0.4 ммоль, 4 экв.) после перекристаллизации из этанола получили 57 мг соединения **13** в виде светло-жёлтого порошка. Выход 48%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.78 (с., 2H, NH-индолинон), 10.30 (с., 2H, NH(3)-имидазолидин), 7.52 – 7.45 (м., 4H, аромат.), 7.42 – 7.30 (м., 10H, аромат.), 6.90 (д., J = 8.4 Гц, 4H, аромат.), 6.81 (д., J = 8.1 Гц, 2H, аромат.), 6.49 – 6.44 (м., 4H, аромат.), 4.26 (т., J = 9.2 Гц, 2H, пирролидин), 4.00 – 3.93 (м., 4H, -OCH₂-), 3.90 (т., J = 9.6 Гц, 2H, пирролидин), 3.45 (т., J = 8.6 Гц, 2H, пирролидин), 2.16 (с., 6H, N-CH₃), 1.53 – 1.39 (м., 4H, -(CH₂)₄-), 1.79 – 1.66 (м., 4H, -(CH₂)₄-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{58}H_{52}Br_2N_8O_6S_2 + H]^+$: 1179.1896; найдено 1179.1907.

1'-метил-4'-{4-([8-(4-{1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-5''-хлордиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-4'-ил}фенокси)октил)окси)фенил}-2-тиоксо-5''-хлордиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (14)

Из 55 мг бис-тиогидантоина **8** (0.1 ммоль, 1 экв.), 71 мг саркозина (0.8 ммоль, 8 экв.) и 109 мг 5-хлоризатина (0.6 ммоль, 6 экв.) после перекристаллизации из этанола получили 62 мг соединения **14** в виде светло-жёлтого порошка. Выход 65%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.77 (с., 2H, NH-индолинон), 10.32 (с., 2H, NH(1)-имидазолидин), 9.53 (с., 2H, NH(3)-имидазолидин), 7.84 (д., J = 8.5 Гц, 4H, аромат.), 7.47 (д., J = 9.2 Гц, 4H, аромат.), 7.40 – 7.29 (м., 2H, аромат.), 7.10 (д., J = 8.4 Гц, 2H, аромат.), 6.65 (д., J = 2.9, 6.6 Гц, 2H, аромат.), 4.25 (т., J = 9.2 Гц, 2H, пирролидин), 4.07 (т., J = 6.7 Гц, 4H, -OCH₂-), 3.93 (т., J = 8.6 Гц, 2H, пирролидин), 3.43 (т., J = 8.1 Гц, 2H, пирролидин), 2.15 (с., 6H, N-CH₃), 1.75 – 1.71 (м., 6H, -(CH₂)₆-), 1.38 – 1.34 (м., 6H, -(CH₂)₆-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₄₈H₄₈Cl₂N₈O₆S₂+ Na]⁺: 989.2413; найдено 989.2407.

5''-бром-4'-{4-([8-(4-{5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-1-фенилдиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-4'-ил}фенокси)октил)окси)фенил}-1'-метил-2-тиоксо-1-фенилдиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (15)

Из 70 мг бис-тиогидантоина **9** (0.1 ммоль, 1 экв.), 71 мг саркозина (0.8 ммоль, 8 экв.) и 136 мг 5-бромизатина (0.6 ммоль, 6 экв.) после перекристаллизации из этанола получили 63 мг соединения **15** в виде жёлтого порошка. Выход 52%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.77 (с., 2H, NH-индолинон), 9.84 (с., 2H, NH(3)-имидазолидин), 7.84 (д., J = 8.5 Гц, 4H, аромат.), 7.47 (д., J = 9.2 Гц, 4H, аромат.), 7.42 – 7.28 (м., 4H, аромат.), 7.10 (д., J = 8.4 Гц, 4H, аромат.), 6.88 (д., J = 8.4 Гц, 3H, аромат.), 6.80 (с., 2H, аромат.), 6.65 (д., J = 6.6 Гц, 4H, аромат.), 4.25 (т., J = 9.3 Гц, 2H, пирролидин), 4.07 (т., J = 6.7 Гц, 4H, -OCH₂-), 3.97 – 3.86 (м., 2H, пирролидин), 3.44 (т., J = 8.4 Гц, 2H, пирролидин), 2.15 (с., 6H, N-CH₃), 1.69 – 1.54 (м., 6H, -(CH₂)₆-), 1.47 – 1.37 (м., 6H, -(CH₂)₆-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₆₀H₅₆Br₂N₈O₆S₂+ Na]⁺: 1229.2023; найдено 1229.2007.

5''-бром-4'-{4-([10-(4-{5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-1-фенилдиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-4'-ил}фенокси)децил)окси)фенил}-1'-метил-2-тиоксо-1-фенилдиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (16):

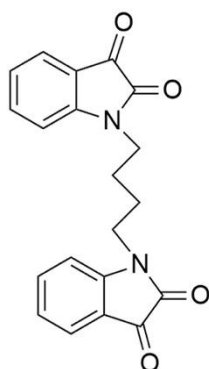
Из 73 мг бис-тиогидантоина **10** (0.1 ммоль, 1 экв.), 54 мг саркозина (0.6 ммоль, 6 экв.) и 91 мг 5-бромизатина (0.4 ммоль, 4 экв.) после перекристаллизации из этанола получили 53 мг соединения **16** в виде жёлтого порошка. Выход 43%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.78 (с., 2H, NH-индолинон), 9.85 (с., 2H, NH(3)-имидазолидин), 7.88 – 7.81 (м., 4H, аромат.), 7.44 – 7.31 (м., 10H, аромат.), 7.14 – 7.07 (м., 4H, аромат.), 6.92 – 6.86 (м., 2H, аромат.), 6.84 – 6.72 (м., 4H, аромат.), 4.26 (т., J = 8.6 Гц, 2H, пирролидин), 4.07 (т., J = 6.5 Гц, 4H, -OCH₂-), 3.94 (т., J = 6.2 Гц, 2H, пирролидин), 3.44 (т., J = 8.9 Гц, 2H, пирролидин), 2.03 (с., 6H, N-CH₃), 1.77 – 1.66 (м., 4H, -(CH₂)₈-), 1.45 – 1.36 (м., 4H, -(CH₂)₈-), 1.35 – 1.21 (м., 8H, -(CH₂)₈-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₆₂H₆₀Br₂N₈O₆S₂+ Na]⁺: 1257.2342; найдено 1257.2348.

4.2.2. Синтез диспиропроизводных с линкером между атомами азота изатинового фрагмента (тип II)

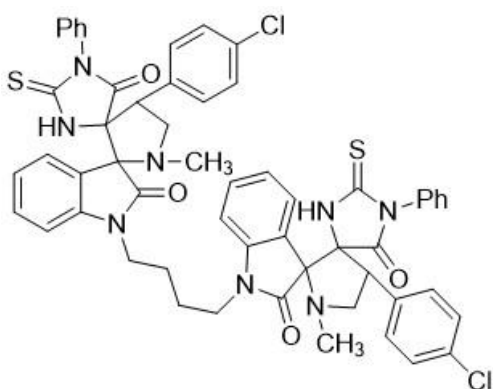
1,1'-(бутан-1,4-диил)бис(индолин-2,3-дион) (**17**) [[225]]:



В 10 мл ДМФА, охлаждённого до 5 °С, растворяли 735 мг изатина (5 ммоль, 2 экв.), далее при перемешивании добавляли 200 мг (5 ммоль, 2 экв.) предварительно промытого диэтиловым эфиром гидроксида натрия (60% в мин/масле). Через 30 минут добавляли 537 мг 1,4-дибромбутана (2.5 ммоль, 1 экв.) и продолжали перемешивание при комнатной температуре на протяжении 6 часов. Затем образовавшийся фиолетовый раствор выливали в ледяную воду, образующийся осадок фильтровали, промывали водой и петролейным эфиром, сушили на воздухе. В результате получили 435 мг соединения **17** в виде оранжевого порошка. Выход 50%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 7.59 – 7.71 (м., 2H, аромат.), 7.49 – 7.58 (м., 2H, аромат.), 7.17 – 7.24 (м., 2H, аромат.), 7.07 – 7.16 (м., 2H, аромат.), 3.66 – 3.74 (м., 4H, N-CH₂-), 1.65 – 1.73 (м., 4H, -(CH₂)₂-).

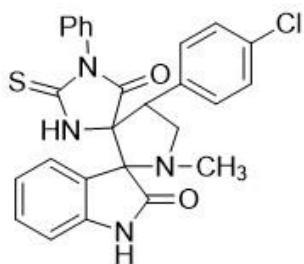
1'',1''''-(бутан-1,4-диил)бис(1'-метил-2-тиоксо-1-фенил-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион) (**18**)



К кипящему раствору (*Z*)-2-тиоксо-3-фенил-5-(4-хлорбензилиден)имидазолидин-4-она массой 158 мг (0.5 ммоль, 2 экв.) и саркозина массой 134 мг (1.5 ммоль, 6 экв.) в этаноле (20 мл) добавляли 348 мг изатина **17** (1

ммоль, 4 экв.) тремя порциями в течение 30 минут и продолжали кипячение реакционной смеси в течение 24 часов. Контроль протекания реакции проводили по ТСХ. Через 24 часа кипячения реакционную смесь охладили до комнатной температуры и добавили избыток воды (40 мл) и насыщенного раствора хлорида натрия (20 мл), выпавший осадок отфильтровали и высушили на воздухе. По результатам анализа реакционной смеси целевое соединение **18** не обнаружено.

1'-метил-2-тиоксо-1-фенил-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (19)

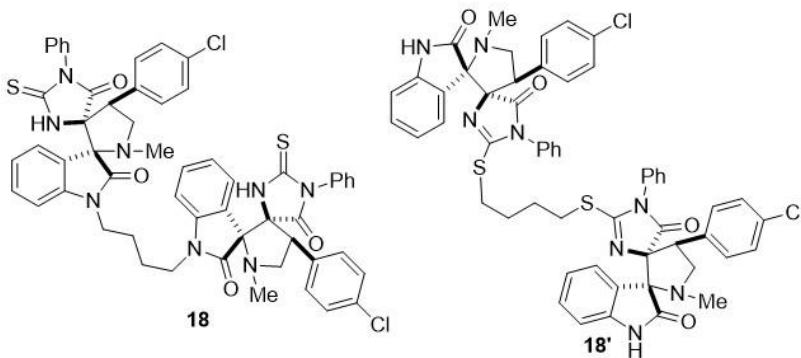


В колбе на 25 мл растворяли 315 мг (*Z*)-2-тиоксо-3-фенил-5-(4-хлорбензилиден)имидазолидин-4-она (1 ммоль, 1 экв.) и 267 мг саркозина (3 ммоль, 3 экв.) в 15 мл этанола, после чего реакционную смесь нагревали до кипения. Далее в течение 15 минут добавляли 3 порциями 294 мг изатина (2 ммоль, 2 экв.) и продолжали кипячение в течение 6 часов. После охлаждения реакционной смеси до комнатной температуры добавляли 30 мл воды и 10 мл насыщенного водного раствора NaCl, фильтровали полученный осадок и промывали на фильтре холодным этанолом и водой. Полученную смесь светло-жёлтого цвета очищали колоночной хроматографией (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) с получением 350 мг соединения **19** в виде белого порошка. Выход 72%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.60 (с., 1H, NH(1'')), 9.73 (с., 1H, NH(3)), 7.39 – 7.28 (м., 5H, аромат.), 7.24 – 7.12 (м., 4H, аромат.), 6.46 – 6.41 (м., 2H, аромат.), 6.39 (д., *J* = 8.6 Гц, 2H, аромат.), 4.10 (т, *J* = 9.2 Гц, 1H, пирролидин), 3.85 (т, *J* = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.41 (т, *J* = 8.6 Гц, 1H, пирролидин), 2.12 (с., 3H, N-CH₃).

HRMS-ESI: *m/z* рассчитано для [C₂₆H₂₁ClN₄O₂S+H]⁺: 489.1152; найдено 489.1150.

2,2'''-(бутан-1,4-диилбис(сульфанедиил)бис(1'-метил-4'-(4-метоксифенил)-1-фенилдиспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (18')



В колбу на 25 мл добавляли 245 мг (0.5 ммоль, 2 экв.) соединения **19** и 15 мл этанола (95%), после чего добавляли 34 мг КОН (0.6 ммоль, 2.4 экв.) и перемешивали реакционную смесь до полного растворения исходного вещества в течение 30 минут. Далее добавляли по каплям 54 мг 1,4-дибромбутана (0.25 ммоль, 1

экв.) и оставляли перемешиваться в течение 16-18 часов (контроль по ТСХ). Затем смесь выливали в 45 мл холодной воды, добавляли 15 мл насыщенного водного раствора NaCl, после чего образующийся осадок фильтровали, промывали на фильтре 10% р-ром NaOH (10 мл), холодной водой (2*15 мл) и холодным петролейным эфиром (2*10 мл). Полученный твёрдый осадок сушили на воздухе, после чего очищали колоночной хроматографией (элюент — градиент CH₂Cl₂/MeOH от 99:1 до 20:1) с получением 90 мг белого порошка. Соотношение **18** и **18'** в полученной смеси составляет 1:6 по данным ¹H ЯМР спектроскопии.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.37 (с., 2H, NH-индолинон), 7.50 – 7.41 (м., 4H, аромат.), 7.40 – 7.32 (м., 12H, аромат.), 6.95 – 6.76 (м., 8H, аромат.), 6.61 – 6.55 (м., 2H, аромат.), 4.12 (т., J = 8.8 Гц, 2H, пирролидин), 4.00 (д., J = 8.8 Гц, 2H, пирролидин), 3.98 – 3.86 (м., 4H, -S-CH₂-), 3.54 – 3.49 (м., 2H, пирролидин), 2.17 (с., 6H, N-CH₃), 1.90 – 1.84 (м., 4H, -(CH₂)₂-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₅₆H₄₈Cl₂N₈O₄S₂ + Na]⁺: 1053.2515; найдено 1053.2530.

4.2.3. Синтез диспиропроизводных с линкером между атомами серы фрагмента 2-тиогидантоина (тип III)

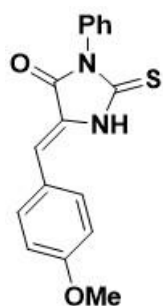
Этил [(фенилкарбамотиоил)амино]ацетат (**21**)[237]

К суспензии гидрохлорида этилового эфира глицина 2 г (14.32 ммоль, 1 экв.) в ацетонитриле (20 мл) при комнатной температуре добавляли 1.74 г триэтиламина (17.6 ммоль, 1.2 экв.) и 1.72 г фенилизотиоцината (14.4 ммоль, 1 экв.) и перемешивали реакционную смесь в течение 45 минут. Полученную реакционную смесь разбавили этилацетатом (80 мл) и промыли 10% раствором хлорида аммония (2x80 мл) и насыщенным раствором хлорида натрия (1x60 мл). Органическую фазу высушили над безводным сульфатом натрия, упарили при пониженном давлении растворителя и твёрдый остаток почистили с помощью колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 1:1) с получением 2.96 г соединения **21** в виде белого порошка. Выход 87%.

¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц, δ, м.д.): 8.33 (с., 1H, NH), 7.47 – 7.42 (м., 2H, аромат.), 7.33 – 7.25 (м., 3H, аромат.), 6.75 (уш. с, 1H, NH), 4.53 (с., 2H, CH₂), 4.26 (к., J = 7.2 Гц, 2H, O-CH₂), 1.33 (т., J = 7.2 Гц, 3H, CH₃).

(Z)-5-(4-метоксибензилиден)-3-фенил-2-тиоксоимидазолидин-4-он (**22**)[240]

К раствору 2.93 г тиомочевины **21** (9 ммоль, 1 экв.) в этаноле (150 мл) добавляли 1.35 г 4-метоксбензальдегида (9.9 ммоль, 1.1 экв.). Далее при перемешивании добавляли 1.51 г твёрдого гидроксида калия (27 ммоль, 3 экв.).

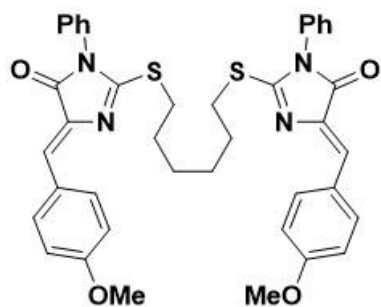


Полученный раствор ярко-красного цвета перемешивали при комнатной температуре в течение 2-3 часов (контроль по ТСХ). После окончания реакции добавляли избыток насыщенного раствора хлорида аммония, наблюдая выпадение осадка жёлтого цвета, который фильтровали и промывали холодным этанолом. Твёрдый остаток перекристаллизовывали из уксусной кислоты, получая соединение **22** массой 2.01 г в виде светло-жёлтого порошка. Выход 72%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.53 (с., 1H, NH), 7.83 (д., $J = 9.0$ Гц, 2H, аромат.), 7.56 – 7.42 (м., 3H, аромат.), 7.42 – 7.34 (м., 2H, аромат.), 7.02 (д., $J = 9.0$ Гц, 2H, аромат.), 6.68 (с., 1H, -C=CH-), 3.83 (с., 3H, OCH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{17}\text{H}_{14}\text{N}_2\text{O}_2\text{S} + \text{H}]^+$: 311.0854; найдено 311.0852.

(Z)-2,2'-(гексан-1,6-диилбис(сульфандиил))бис(5-((*Z*)-4-метоксибензилиден)-3-фенил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он) (**23**)

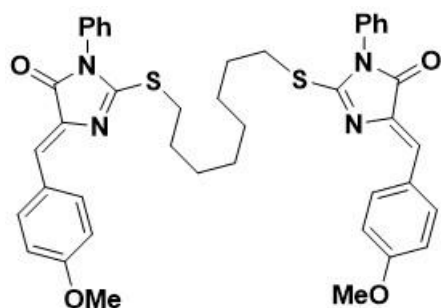


931 мг тиогидантоина **22** (3 ммоль, 2 экв.) растворяли в 50 мл этанола (95%) и добавляли 202 мг KOH (3.6 ммоль, 3.6 экв.) и после полного растворения при перемешивании по каплям добавляли 439 мг (1.8 ммоль, 1.2 экв.) 1,6-дибромгексана. После перемешивания при комнатной температуре в течение 16 часов реакционную смесь выливали в 100 мл воды со льдом. Наблюдали образование осадка жёлтого цвета, который фильтровали, промывали 10% водным р-ром NaOH (25 мл), холодной водой (2*25 мл) и холодным н-гексаном (25 мл), после чего сушили на воздухе. После колоночной хроматографии (элюент — CH₂Cl₂/CH₃OH/Et₃N 98:1:1) получили 0.496 г соединения **23** в виде светло-жёлтого порошка. Выход 47%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 8.23 – 8.18 (м., 4H, аромат.), 7.58 – 7.46 (м., 6H, аромат.), 7.37 – 7.32 (м., 4H, аромат.), 6.97 (д., $J = 8.9$ Гц, 4H, аромат.), 6.90 (с., 2H, -C=CH-), 3.86 – 3.81 (м., 4H, S-CH₂), 3.75 (с., 6H, OCH₃), 1.88 – 1.75 (м., 4H, -(CH₂)₄-), 1.53 – 1.40 (м., 4H, -(CH₂)₄-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{40}\text{H}_{38}\text{N}_4\text{O}_4\text{S}_2 + \text{H}]^+$: 703.2413; найдено 703.2405.

(Z)-2,2'-(октан-1,8-диилбис(сульфандиил))бис(5-((*Z*)-4-метоксибензилиден)-3-фенил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он) (**24**)



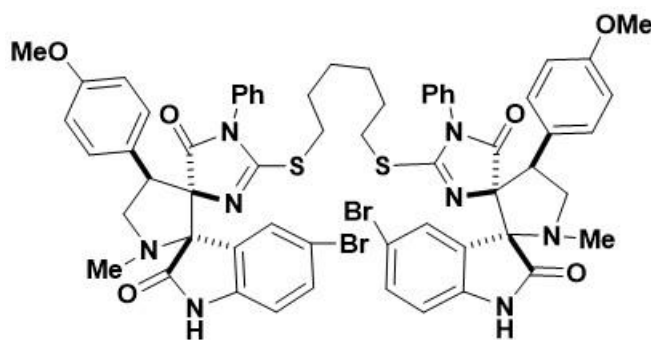
931 мг тиогидантоина **22** (3 ммоль, 2 экв.) растворяли в 50 мл этанола (95%) и добавляли 202 мг KOH (3.6 ммоль, 3.6 экв.) и после полного растворения при перемешивании по

каплям добавляли 490 мг (1.8 ммоль, 1.2 экв.) 1,8-дибромоктана. После перемешивания при комнатной температуре в течение 16 часов реакционную смесь выливали в 100 мл воды со льдом. Выпадает жёлтый осадок, который фильтровали, промывали 10% водным р-ром NaOH (25 мл), холодной водой (2*25 мл) и холодным н-гексаном (25 мл), после чего сушили на воздухе. После колоночной хроматографии (элюент — CH₂Cl₂/CH₃OH/Et₃N 98:1:1) получили 0.628 г соединения **23** в виде светло-жёлтого порошка. Выход 57%.

¹H ЯМР (CDCl₃, 400 МГц, δ, м.д.): 8.16 (д., J = 8.9 Гц, 4H, аромат.), 7.53 – 7.40 (м., 6H, аромат.), 7.36 – 7.31 (м., 4H, аромат.), 7.00 (с., 2H, -C=CH-), 6.94 (д., J = 8.9 Гц, 4H, аромат.), 3.83 (с., 6H, OCH₃), 3.29 (т., J = 7.4 Гц, 4H, S-CH₂-), 1.83 (п., J = 7.3 Гц, 4H, -(CH₂)₆-), 1.54 – 1.33 (м., 8H, -(CH₂)₆-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₄₂H₄₂N₄O₄S₂ + Na]⁺: 753.2545; найдено 753.2550.

2,2'''-(гексан-1,6-диилбис(сульфандиил))бис(4'-(4-метоксифенил)-1'-метил-1-фенилдиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион) (25):

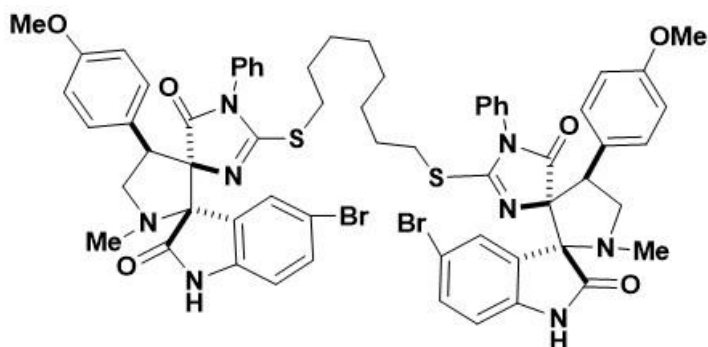


К кипящему раствору 352 мг тиогидантоина **23** (0.5 ммоль, 1 экв.) и 267 мг саркозина (3 ммоль, 6 экв.) в этаноле добавляли 452 мг 5-бромизатина (2 ммоль, 4 экв.) двумя порциями в течение 30 минут и продолжали кипячение в течение 10-12 часов (контроль протекания реакции по ТСХ). После завершения реакции и охлаждения раствора до комнатной температуры к нему добавляли избыток холодной воды (40 мл) и насыщенного раствора хлорида натрия (20 мл), в результате наблюдали выпадение белого осадка, который затем фильтровали и высушивали на воздухе. После колоночной хроматографии (элюент — CH₂Cl₂/CH₃OH/Et₃N 200:5:2) получили 0.26 г соединения **25** в виде белого порошка. Выход 43%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.53 (с., 2H, NH), 7.57 – 7.22 (м., 12H, аромат.), 7.22 – 7.14 (м., 2H, аромат.), 6.85 (д., J = 8.4 Гц, 4H, аромат.), 6.72 (д., J = 8.2 Гц, 2H, аромат.), 6.48 – 6.42 (м., 4H, аромат.), 4.70 (т., J = 9.3 Гц, 2H, пирролидин), 3.84 – 3.65 (м., 10H, -SCH₂- + OCH₃), 3.56 – 3.48 (м., 2H, пирролидин), 3.18 (т., J = 6.7 Гц, 2H, пирролидин), 2.18 (с., 6H), 1.74 – 1.69 (м., 4H, -(CH₂)₄-), 1.46 – 1.42 (м., 4H, -(CH₂)₄-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₆₀H₅₆Br₂N₈O₆S₂ + Na]⁺: 1229.2029; найдено 1229.2042.

2,2'''-(октан-1,8-диилбис(сульфандиил))бис(4'-(4-метоксифенил)-1'-метил-1-фенилдиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион) (26):



К кипящему раствору 352 мг тиогидантоина **24** (0.5 ммоль, 1 экв.) и 267 мг саркозина (3 ммоль, 6 экв.) в этаноле добавляли 452 мг 5-бромизатина (2 ммоль, 4 экв.) двумя порциями в течение 30 минут и продолжали кипячение в течение 10-12 часов (контроль протекания реакции по

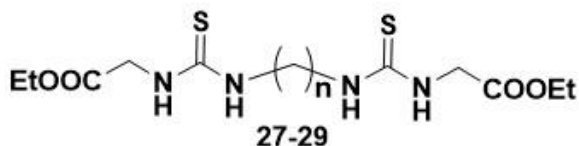
ТСХ). После завершения реакции и охлаждения раствора до комнатной температуры к нему добавляли избыток холодной воды (40 мл) и насыщенного раствора хлорида натрия (20 мл), в результате наблюдали выпадение белого осадка, который затем фильтровали и высушивали на воздухе. После колоночной хроматографии (элюент — $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}/\text{Et}_3\text{N}$ 200:5:2) получили 0.321 г соединения **26** в виде белого порошка. Выход 52%.

^1H ЯМР (DMCO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.54 (с., 2H, NH), 7.49 – 7.32 (м., 10H, аромат.), 7.30 – 7.25 (м., 2H, аромат.), 7.22 – 7.14 (м., 2H, аромат.), 6.87 – 6.77 (м., 4H, аромат.), 6.77 – 6.70 (м., 2H, аромат.), 6.66 – 6.61 (м., 2H, аромат.), 6.48 – 6.41 (м., 2H, аромат.), 4.71 (т., $J = 9.3$ Гц, 2H, пирролидин), 4.13 – 3.95 (м., 4H, $-\text{SCH}_2-$), 3.82 – 3.75 (м., 2H, пирролидин), 3.70 (с., 6H, OCH_3), 3.53 (т., $J = 9.7$ Гц, 2H, пирролидин), 2.20 (с., 6H, NCH_3), 1.70 – 1.62 (м., 4H, $-(\text{CH}_2)_6-$), 1.39 – 1.08 (м., 8H, $-(\text{CH}_2)_6-$).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{62}\text{H}_{60}\text{Br}_2\text{N}_8\text{O}_6\text{S}_2 + \text{H}]^+$: 1234.2444; найдено 1234.2462.

4.2.4. Синтез диспиропроизводных с линкером между атомами азота в 3-м положении 2-тиогидантоина (тип IV)

Синтез бис-тиомочевин 27-29



К соответствующему α,ω -дибромалкану (1 экв.) в диэтиловом эфире (15 мл) по каплям при интенсивном перемешивании добавляли этиловый эфир изотиоцианоксусной кислоты (2 экв.). Перемешивание продолжается при комнатной температуре в течение 45-60 минут, протекание реакции контролируют по ТСХ. После окончания реакции диэтиловый эфир упаривали при пониженном давлении и использовали вещество далее без дополнительной очистки.

Диэтиловый эфир 4,11-дитиоксо-3,5,10,12-тетраазатетрадекановой кислоты (27)

Из 881 мг 1,4-диаминобутана (10 ммоль, 1 экв.) и 2.9 г этилового эфира изотиоцианоуксусной кислоты (20 ммоль, 2 экв.) получили 3.78 г бис-тиомочевины **27** в виде светло-розового порошка. Выход >99%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 7.74 (уш. с., 2H, NH), 7.50 (уш. с., 2H, NH), 4.39 (д., J = 5.2 Гц, 4H, N-CH₂-COOEt), 4.25 – 4.16 (м., 4H, NH-CH₂-), 3.81 – 3.70 (м., 4H, O-CH₂-CH₃), 1.67 – 1.52 (м., 2H, -(CH₂)₂-), 1.43 – 1.34 (м., 2H, -(CH₂)₂-), 1.29 (т., J = 7.1 Гц, 6H, O-CH₂-CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₄H₂₆N₄O₄S₂ + H]⁺: 379.1474; найдено 379.1476.

Диэтиловый эфир 4,13-дитиоксо-3,5,12,14-тетраазагексадекановой кислоты (28):

Из 1.16 г 1,6-диамингексана (10 ммоль, 1 экв.) и 2.9 г этилового эфира изотиоцианоуксусной кислоты (20 ммоль, 2 экв.) получили 4.05 г бис-тиомочевины **28** в виде светло-бежевого порошка. Выход >99%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 7.75 (уш. с., 2H, NH), 7.50 (уш. с., 2H, NH), 4.63 (с., 4H, N-CH₂-COOEt), 4.24 – 4.13 (м., 4H, NH-CH₂-), 4.13 – 4.05 (м., 4H, O-CH₂-CH₃), 1.59 – 1.42 (м., 4H, -(CH₂)₄-), 1.36 – 1.24 (м., 4H, -(CH₂)₄-), 1.25 – 1.15 (м., 6H, O-CH₂-CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₆H₃₀N₄O₄S₂ + H]⁺: 407.1787; найдено 407.1795.

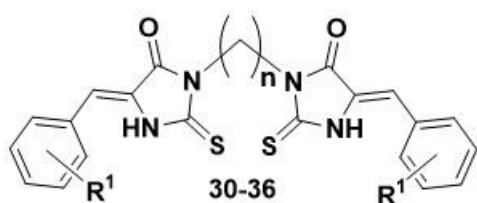
Диэтиловый эфир 4,15-дитиоксо-3,5,15,16-тетраазагексадекановой кислоты (29):

Из 1.44 г 1,8-диаминооктана (10 ммоль, 1 экв.) и 2.9 г этилового эфира изотиоцианоуксусной кислоты (20 ммоль, 2 экв.) получили 4.33 г бис-тиомочевины **27** в виде светло-розового порошка. Выход >99%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 7.74 (уш. с., 2H, NH), 7.50 (уш. с., 2H, NH), 4.19 (д., J = 5.7 Гц, 4H, N-CH₂-COOEt), 4.14 – 4.04 (м., 4H, O-CH₂-CH₃), 3.66 – 3.57 (м., 4H, NH-CH₂-), 1.60 – 1.41 (м., 8H, -(CH₂)₆-), 1.30 – 1.22 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 1.19 (т., J = 7.1 Гц, 6H, O-CH₂-CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₈H₃₄N₄O₄S₂ - H]⁻: 433.1943; найдено 433.1935.

Синтез бис-5-арилиден-2-тиогидантоинов 30-36



Соответствующую бис-тиомочевину **27-29** (1 экв.) растворяли в этиловом спирте (10 мл/1 ммоль) и добавляли замещённый бензальдегид (2.2 экв.), а затем твёрдый гидроксид калия (6 экв.). Полученный раствор перемешивали при комнатной температуре в течение 4-6 часов. После окончания реакции

(контроль по ТСХ) добавляли избыток 1М водного раствора соляной кислоты, выпадающий осадок фильтровали и сушили на воздухе. Твёрдый продукт очищали с помощью колоночной хроматографии в системе ПЭ/ЭА, либо перекристаллизацией из этилового спирта или уксусной кислоты.

(Z)-3,3'-(бутан-1,4-диил)бис(5-((Z)-4-метоксибензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он) (30)

Из 757 мг бис-тиомочевины **27** (2 ммоль, 1 экв.), 599 мг 4-метоксибензальдегида (4.4 ммоль, 2.2 экв.) и 672 мг гидроксида калия (12 ммоль, 6 экв.) после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 4:1) получили 418 мг соединения **30** в виде жёлтого порошка. Выход 40%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.32 (с., 2H, NH), 7.77 (д., J = 8.8 Гц, 4H, аромат.), 6.99 (д., J = 8.8 Гц, 4H, аромат.), 6.60 (с., 2H, -C=CH-), 3.88 – 3.82 (м., 10H, N-CH₂- + -O-CH₃), 1.66 – 1.60 (м., 4H, -(CH₂)₂-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₆H₂₆N₄O₄S₂ + H]⁺: 523.1474; найдено 523.1467.

(Z)-3,3'-(бутан-1,4-диил)бис(5-((Z)-4-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он) (31)

Из 757 мг бис-тиомочевины **27** (2 ммоль, 1 экв.), 618 мг 4-хлорбензальдегида (4.4 ммоль, 2.2 экв.) и 672 мг гидроксида калия (12 ммоль, 6 экв.) после перекристаллизации из уксусной кислоты получили 563 мг соединения **31** в виде жёлтого порошка. Выход 53%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.40 (с., 2H, NH), 7.87 – 7.59 (м., 4H, аромат.), 7.60 – 7.31 (м., 4H, аромат.), 6.60 (с., 2H, -C=CH-), 3.92 – 3.68 (м., 4H, N-CH₂-), 1.75 – 1.50 (м., 4H, -(CH₂)₂-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₄H₂₀N₄O₂S₂ + H]⁺: 531.0483; найдено 531.0490.

(Z)-3,3'-(гексан-1,6-диил)бис(5-((Z)-4-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он) (32)

Из 407 мг бис-тиомочевины **28** (1 ммоль, 1 экв.), 309 мг 4-хлорбензальдегида (2.2 ммоль, 2.2 экв.) и 336 мг гидроксида калия (6 ммоль, 6 экв.) после перекристаллизации из этилового спирта получили 313 мг соединения **32** в виде желтого порошка. Выход 56%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.34 (с., 2H, NH), 7.83 – 7.74 (м., 4H, аромат.), 7.53 – 7.43 (м., 4H, аромат.), 6.60 (с., 2H, HC=), 3.77 (т., J = 7.2 Гц, 4H, N-CH₂-), 1.70 – 1.61 (м., 4H, -(CH₂)₄-), 1.37 – 1.31 (м., 4H, -(CH₂)₄-).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 178.92, 164.06, 133.87, 132.19, 131.93 (2С), 131.27, 128.79 (2С), 126.68, 111.15, 27.03, 25.68.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{26}\text{H}_{24}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2 + \text{Na}]^+$: 581.0615; найдено 581.0618.

(Z)-3,3'-(гексан-1,6-диил)бис(5-((Z)-3,4-дифторбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он) (33)

Из 407 мг бис-тиомочевины **28** (1 ммоль, 1 экв.), 313 мг 3,4-дифторбензальдегида (2.2 ммоль, 2.2 экв.) и 336 мг гидроксида калия (6 ммоль, 6 экв.) после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 4:1) получили 238 мг соединения **33** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 42%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.47 (с., 2H, NH), 7.97 – 7.87 (м., 2H, аромат.), 7.65 – 7.56 (м., 2H, аромат.), 7.54 – 7.43 (м., 2H, аромат.), 6.60 (с., 2H, -C=CH-), 3.77 (т., $J = 7.5$ Гц, 4H, N-CH₂-), 1.69 – 1.52 (м., 4H, -(CH₂)₄-), 1.39 – 1.25 (м., 4H, -(CH₂)₄-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{26}\text{H}_{22}\text{F}_4\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2 + \text{Na}]^+$: 585.1018; найдено 585.1012.

(Z)-3,3'-(октан-1,8-диил)бис(5-((Z)-4-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он) (34)

Из 435 мг бис-тиомочевины **29** (1 ммоль, 1 экв.), 309 мг 4-хлорбензальдегида (2.2 ммоль, 2.2 экв.) и 336 мг гидроксида калия (6 ммоль, 6 экв.) после перекристаллизации из этанола (95%) получили 358 мг соединения **34** в виде жёлтого порошка. Выход 61%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.43 (с., 2H, NH), 7.92 – 7.64 (м., 4H, аромат.), 7.64 – 7.33 (м., 4H, аромат.), 6.61 (с., 2H, -C=CH-), 3.88 – 3.59 (м., 4H, N-CH₂-), 1.76 – 1.42 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 1.40 – 0.91 (м., 8H, -(CH₂)₆-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{28}\text{H}_{28}\text{Cl}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{S}_2 + \text{H}]^+$: 587.1109; найдено 587.1114.

(Z)-3,3'-(октан-1,8-диил)бис(5-((Z)-4-бромбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он) (35)

Из 435 мг бис-тиомочевины **29** (1 ммоль, 1 экв.), 407 мг 4-бромбензальдегида (2.2 ммоль, 2.2 экв.) и 336 мг гидроксида калия (6 ммоль, 6 экв.) после перекристаллизации из этанола (95%) получили 359 мг соединения **35** в виде жёлтого порошка. Выход 53%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.39 (с., 2H, NH), 7.74 (д., $J = 8.5$ Гц, 4H, аромат.), 7.60 (д., $J = 8.5$ Гц, 4H, аромат.), 6.54 (с., 2H, -C=CH-), 3.75 (т., $J = 7.3$ Гц, 4H, N-CH₂-), 1.64 – 1.53 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 1.33 – 1.18 (м., 8H, -(CH₂)₆-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{28}H_{28}Br_2N_4O_2S_2 + Na]^+$: 696.9918; найдено 696.9927.

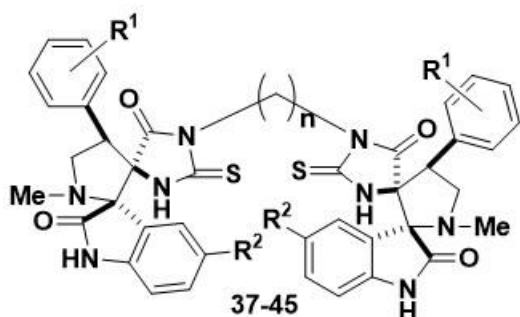
(Z)-3,3'-(октан-1,8-диил)бис(5-((Z)-4-метоксибензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он) (36)

Из 435 мг бис-тиомочевины **29** (1 ммоль, 1 экв.), 300 мг 4-метоксибензальдегида (2.2 ммоль, 2.2 экв.) и 336 мг гидроксида калия (6 ммоль, 6 экв.) после перекристаллизации из ледяной уксусной кислоты получили 272 мг соединения **36** в виде жёлтого порошка. Выход 47%.

1H ЯМР (DMCO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.28 (с., 2H, NH), 7.76 (д., $J = 8.4$ Гц, 4H, аромат.), 6.98 (д., $J = 8.4$ Гц, 4H, аромат.), 6.60 (с., 2H, $-C=CH-$), 3.80 (с., 6H, OCH₃), 3.78 – 3.72 (м., 4H, N-CH₂-), 1.67 – 1.51 (м., 4H, $-(CH_2)_6-$), 1.32 – 1.14 (м., 8H, $-(CH_2)_6-$).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{30}H_{34}N_4O_4S_2 + H]^+$: 579.2100; найдено 579.2093.

Синтез бис-диспириноидолинонов 37-45



К кипящему раствору соответствующего бис-5-арилиден-2-тиогидантоина **30-36** (1 экв.) и саркозина (4-6 экв.) в 20 мл этанола добавляли соответствующий изатин (6-8 экв.) и кипятили смесь в течение 12-14 часов (контроль по ТСХ). После завершения реакции и охлаждения раствора до комнатной температуры к нему добавляли 20 мл воды и 20 мл насыщенного водного раствора хлорида натрия. Наблюдали выпадение осадка, который затем фильтровали, промывали водой и холодным этанолом, сушили на воздухе. Очищали полученный твёрдый остаток с помощью колоночной хроматографии (элюент — градиент CH_2Cl_2/CH_3OH 99:1 → 20:1) или перекристаллизацией из этилового спирта.

1,1'''-(бутан-1,4-диил)бис(5''-бром-4'-(4-метоксифенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пироллидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (37):

Из 157 мг бис-2-тиогидантоина **30** (0.3 ммоль, 1 экв.), 214 мг саркозина (2.4 ммоль, 8 экв.) и 407 мг 5-бромизатина (1.8 ммоль, 6 экв.) получили после колоночной хроматографии (элюент — градиент CH_2Cl_2/CH_3OH 99:1 → 20:1) 83 мг соединения **37** в виде белого порошка. Выход 27%.

1H ЯМР (DMCO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.62 (с., 2H, NH-индолинон), 9.75 (с., 2H, NH-имидазолидин), 7.48 (д., $J = 2.0$ Гц, 4H, аромат.), 7.40 (дд., $J = 8.2, 2.0$ Гц, 4H, аромат.), 6.83 (д., J

= 8.4 Гц, 4Н, аромат.), 6.72 (д., $J = 8.2$ Гц, 2Н, аромат.), 4.13 (т., $J = 8.7$ Гц, 2Н, пирролидин), 3.82 (т., $J = 8.7$ Гц, 2Н, пирролидин), 3.38 (т., $J = 8.7$ Гц, 2Н, пирролидин), 3.27 – 3.22 (м., 10Н, N-CH₂ + OCH₃), 2.11 (с., 6Н, N-CH₃), 0.75 – 0.65 (м., 4Н, -(CH₂)₂-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₄₆H₄₄Br₂N₈O₆S₂ + Na]⁺: 1049.1092; найдено 1049.1091.

1,1'''-(бутан-1,4-диил)бис(4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пироллидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (38):

Из 159 мг бис-2-тиогидантоина **31** (0.3 ммоль, 1 экв.), 214 мг саркозина (2.4 ммоль, 8 экв.) и 352 мг изатина (2.4 ммоль, 8 экв.) получили после перекристаллизации из этанола 116 мг соединения **38** в виде белого порошка. Выход 37%. $T_{пл}$: 308-312 °С.

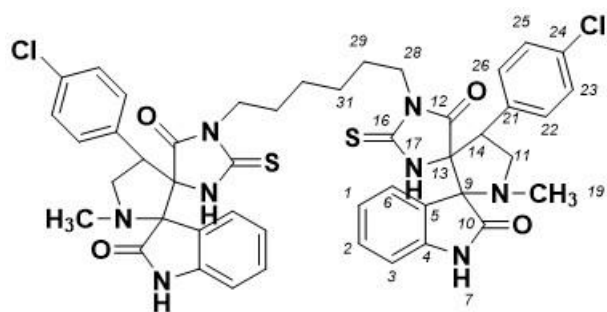
¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.72 (с., 2Н, NH-индолинон), 10.15 (с., 2Н, NH-имидазолидин), 7.65 – 7.60 (м., 2Н, аромат.), 7.49 – 7.34 (м., 6Н, аромат.), 7.18 – 7.12 (м., 2Н, аромат.), 6.72 (д., $J = 7.8$ Гц, 2Н, аромат.), 4.12 (т., $J = 9.4$ Гц, 2Н, пирролидин), 3.82 (т., $J = 8.7$ Гц, 2Н, пирролидин), 3.42 (т., $J = 8.1$ Гц, 2Н, пирролидин), 3.28 – 3.24 (м., 4Н), 2.10 (с., 6Н, N-CH₃), 0.73 – 0.68 (м., 4Н, -(CH₂)₂-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₄₄H₄₀Cl₂N₈O₄S₂ + Na]⁺: 879.2069; найдено 879.2068.

1,1'''-(гексан-1,6-диил)бис(4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пироллидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (39):

Из 87 мг бис-2-тиогидантоина **32** (0.15 ммоль, 1 экв.), 108 мг саркозина (1.2 ммоль, 8 экв.) и 176 мг изатина (1.2 ммоль, 8 экв.) получили после перекристаллизации из этанола 76 мг соединения **39** в виде белого порошка. Выход 45%. $T_{пл}$: 290-292 °С.

Для соединения **39** были зарегистрированы двумерные спектры (HMBC и HSQC, см. Приложение), с помощью анализа которых удалось сделать полное отнесение сигналов в спектрах.



¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.75 (с., 2Н, NH(7)), 10.14 (с., 2Н, NH(17)), 7.41 – 7.35 (м., 4Н, H(22) + H(23) + H(25) + H(26)), 7.34 – 7.32 (м., 2Н, H(6)), 7.23 – 7.18 (м., 2Н, H(2)), 6.95 (т., $J = 8.2$ Гц, 2Н, H(1)), 6.74 (д., $J = 7.7$ Гц, 2Н, H(3)), 4.17 (т., $J = 7.7$ Гц, 2Н, H(14)), 3.81 (т., $J = 7.7$ Гц, 2Н, H(11)), 3.45 (т., $J = 7.7$ Гц, 2Н, H(11')), 3.28 – 3.22 (м., 4Н, H(28) + H(28')), 2.10 (с., 6Н, H(19)), 1.01 – 0.92 (м., 4Н, H(29) + H(29')), 0.72 – 0.51 (м, 4Н, H(31) + H(31')).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.) ¹³: 181.20 (C(16)), 175.09 (C(8)), 172.65 (C(14)), 142.71 (C(4)), 133.89 (C(21)), 132.22 (C(24)), 131.36 (2C, C(22) + C(26)), 129.88 (C(2)), 128.33 (2C, C(23) + C(25)), 127.06 (C(6)), 123.80 (C(5)), 121.58 (C(1)), 109.68 (C(3)), 77.06 (C(9)), 75.74 (C(13)), 56.55 (C(11)), 50.05 (C(14)), 39.94 (C(28)), 34.57 (C(19)), 26.55 (C(29)), 25.23 (C(31)).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₄₆H₄₄Cl₂N₈O₄S₂ + Na]⁺: 929.2196; найдено 929.2189.

1,1'''-(гексан-1,6-диил)бис(5''-бром-4'-(3,4-дифторфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (40):

Из 28 мг бис-2-тиогидантоина **33** (0.05 ммоль, 1 экв.), 36 мг саркозина (0.4 ммоль, 8 экв.) и 68 мг 5-бромизатина (0.3 ммоль, 6 экв.) получили после колоночной хроматографии (элюент — градиент CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1 → 20:1) 25 мг соединения **40** в виде белого порошка. Выход 47%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.72 (с., 2H, NH-индолинон), 10.14 (с., 2H, NH-имидазолидин), 7.66 – 7.60 (м., 2H, аромат.), 7.48 – 7.42 (м., 4H, аромат.), 7.32 (д., J = 9.8 Гц, 2H, аромат.), 7.15 – 7.10 (м., 2H, аромат.), 6.72 (д., J = 7.8 Гц, 2H, аромат.), 4.22 (т., J = 9.2 Гц, 2H, пирролидин), 3.80 (т., J = 8.4 Гц, 2H, пирролидин), 3.42 (т., J = 8.8 Гц, 2H, пирролидин), 3.30 – 3.22 (м., 4H, N-CH₂), 2.11 (с., 6H, N-CH₃), 1.09 – 0.85 (м., 8H, -(CH₂)₄-).

1,1'''-(октан-1,8-диил)бис(5''-бром-4'-(4-хлорфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (41):

Из 98 мг бис-2-тиогидантоина **34** (0.17 ммоль, 1 экв.), 119 мг саркозина (1.33 ммоль, 8 экв.) и 302 мг 5-бромизатина (1.33 ммоль, 8 экв.) получили после перекристаллизации из этанола 95 мг соединения **41** в виде белого порошка. Выход 51%. T_{пл}: 290-292 °C.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.71 (с., 2H, NH-индолинон), 10.05 (с., 2H, NH-имидазолидин), 7.47 (дд., J = 3.2, 5.4 Гц, 2H, аромат.), 7.42 – 7.37 (м., 2H, аромат.) 7.35 (д., J = 3.4 Гц, 6H, аромат.), 6.73 (д., J = 8.3 Гц, 2H, аромат.), 6.61 (д., J = 9.6 Гц, 2H, аромат.), 4.17 (т., J = 9.1 Гц, 2H, пирролидин), 3.84 (т., J = 9.5 Гц, 2H, пирролидин), 3.43 (т., J = 8.8 Гц, 2H, пирролидин), 3.26 – 3.20 (м., 4H, N-CH₂), 2.10 (с., 6H, N-CH₃), 1.63 – 1.55 (м., 2H, -(CH₂)₆-), 1.32 – 0.99 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 0.95 – 0.72 (м., 6H, -(CH₂)₆-).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 181.29, 174.61, 172.66, 142.15, 133.68, 132.31 (2C), 131.95, 131.45, 129.72, 128.83 (2C), 128.36, 126.37, 113.66, 111.71, 77.09, 75.87, 56.55, 50.08, 34.68, 28.41, 26.71, 25.63.

¹³ Для симметричных бис-диспироиндолинонов сигналы в спектрах ¹³C приведены для одной половины соединения

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{48}H_{46}Br_2Cl_2N_8O_4S_2 + Na]^+$: 1113.0719; найдено 1113.0714.

1,1'''-(октан-1,8-диил)бис(5''-бром-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (42):

Из 75 мг бис-2-тиогидантоина **35** (0.11 ммоль, 1 экв.), 79 мг саркозина (0.9 ммоль, 8 экв.) и 200 мг 5-бромизатина (0.9 ммоль, 8 экв.) получили после перекристаллизации из этанола 78 мг соединения **42** в виде белого порошка. Выход 59%. $T_{пл}$: 258-262 °С.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.71 (с., 2H, NH-индолинон), 10.01 (с., 2H, NH-имидазолидин), 7.52 – 7.43 (м., 6H, аромат.), 7.42 – 7.33 (м., 2H, аромат.), 7.29 (д., $J = 8.1$ Гц, 4H, аромат.), 6.73 (д., $J = 8.2$ Гц, 2H, аромат.), 4.15 (т., $J = 9.2$ Гц, 2H, пирролидин), 3.84 (т., $J = 9.4$ Гц, 2H, пирролидин), 3.40 (т., $J = 7.6$ Гц, 2H, пирролидин), 3.25 – 3.20 (м., 4H, N-CH₂), 2.10 (с., 6H, N-CH₃), 1.15 – 1.00 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 0.98 – 0.93 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 0.77 – 0.71 (м., 4H, -(CH₂)₆-).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 181.2, 174.5, 172.6, 142.0, 134.0, 132.6, 131.8, 131.2 (2C), 129.7, 126.3 (2C), 120.9, 113.6, 111.6, 77.0, 75.8, 56.4, 50.0, 34.6, 28.4, 26.7, 25.6.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{48}H_{46}Br_4N_8O_4S_2 + Na]^+$: 1200.9709; найдено 1200.9731.

(1,1'''-(октан-1,8-диил)бис(5''-хлор-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (43):

Из 75 мг бис-2-тиогидантоина **35** (0.11 ммоль, 1 экв.), 79 мг саркозина (0.9 ммоль, 8 экв.) и 200 мг 5-бромизатина (0.9 ммоль, 8 экв.) получили после перекристаллизации из этанола 64 мг соединения **43** в виде белого порошка. Выход 52%. $T_{пл}$: 232-236 °С.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.70 (с., 2H, NH-индолинон), 10.03 (с., 2H, NH-имидазолидин), 7.46 (д., $J = 8.0$ Гц, 2H, аромат.), 7.37 (д., $J = 2.4$ Гц, 2H, аромат.), 7.34 – 7.22 (м., 6H, аромат.), 6.78 (д., $J = 8.2$ Гц, 2H, аромат.), 4.17 (т., $J = 9.2$ Гц, 2H, пирролидин), 3.84 (т., $J = 9.4$ Гц, 2H, пирролидин), 3.40 (т., $J = 7.8$ Гц, 2H, пирролидин), 3.26 – 3.21 (м., 4H, N-CH₂), 2.10 (с., 6H, N-CH₃), 1.17 – 1.00 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 0.98 – 0.91 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 0.76 – 0.71 (м., 4H, -(CH₂)₆-).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 181.2, 174.6, 172.4, 141.6, 134.0, 131.7 (2C), 131.2, 129.7, 127.0 (2C), 126.0, 125.8, 120.9, 111.1, 77.1, 75.8, 56.4, 50.1, 34.6, 28.4, 26.7, 25.6.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{48}H_{46}Br_2Cl_2N_8O_4S_2 + Na]^+$: 1113.0719; найдено 1113.0726.

1,1'''-(октан-1,8-диил)бис(5''-бром-4'-(4-метоксифенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (44):

Из 29 мг бис-2-тиогидантоина **36** (0.05 ммоль, 1 экв.), 36 мг саркозина (0.4 ммоль, 8 экв.) и 91 мг 5-бромизатина (0.4 ммоль, 8 экв.) получили после колоночной хроматографии (элюент — градиент CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1 → 20:1) 25 мг соединения **44** в виде белого порошка. Выход 45%. T_{пл}: 242-244 °С.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.69 (с., 2H, NH-индолинон), 9.75 (с., 2H, NH-имидазолидин), 7.49 (с., 2H, аромат.), 7.40 (с., 2H, аромат.), 7.26 (д., J = 8.3 Гц, 4H, аромат.), 6.84 (д., J = 8.2 Гц, 4H, аромат.), 6.74 (д., J = 8.3 Гц, 2H, аромат.), 4.11 (т., J = 9.1 Гц, 2H, пирролидин), 3.85 (т., J = 9.4 Гц, 2H, пирролидин), 3.70 (с., 6H, OCH₃), 3.50 – 3.35 (м., 6H, N-пирролидин + N-CH₂), 2.12 (с., 6H, N-CH₃), 1.15 – 1.02 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 1.13 – 0.98 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 0.97 – 0.85 (м., 4H, -(CH₂)₆-).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 181.1, 174.7, 172.7, 158.6, 142.0, 132.5, 130.6 (2C), 129.7, 126.6, 126.3, 113.8 (2C), 113.6 (2C), 111.6, 77.2, 75.9, 56.7, 55.0, 50.3, 39.9 34.7, 28.4, 26.7, 25.6. Один из сигналов совпадает с сигналом DMCO.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₅₀H₅₂Br₂N₈O₄S₂ + Na]⁺: 1105.1716; найдено 1105.1734.

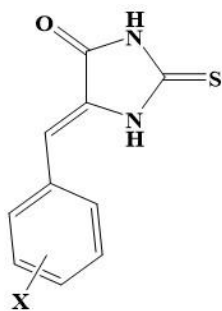
(1,1'''-(октан-1,8-диил)бис(5''-хлор-4'-(4-метоксифенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (45):

Из 29 мг бис-2-тиогидантоина **36** (0.05 ммоль, 1 экв.), 36 мг саркозина (0.4 ммоль, 8 экв.) и 73 мг 5-хлоризатина (0.4 ммоль, 8 экв.) получили после колоночной хроматографии (элюент — градиент CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1 → 20:1) 28 мг соединения **45** в виде белого порошка. Выход 55%. T_{пл}: 286-290 °С.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.68 (с., 2H, NH-индолинон), 9.80 (с., 2H, NH-имидазолидин), 7.39 (с., 2H, аромат.), 7.26 (д., J = 8.4 Гц, 6H, аромат.), 6.84 (д., J = 8.4 Гц, 4H, аромат.), 6.78 (д., J = 8.1 Гц, 2H, аромат.), 4.14 (т., J = 8.7 Гц, 2H, пирролидин), 3.83 (т., J = 9.2 Гц, 2H, пирролидин), 3.70 (с., 6H, OCH₃), 3.40 (т., J = 7.9 Гц, 2H, пирролидин), 3.27 – 3.20 (м., 4H, N-CH₂), 2.12 (с., 6H, N-CH₃), 1.13 – 1.01 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 0.96 – 0.90 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 0.79 – 0.69 (м., 4H, -(CH₂)₆-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₅₀H₅₂Cl₂N₈O₄S₂ + Na]⁺: 1017.2726; найдено 1017.2750.

Синтез 5-арилиден-2-тиогидантоинов 47-50 [176]



2-тиогидантоин **46** (1 экв.) и ацетат калия (1.1 экв.) растворяли в уксусной кислоте. Добавляли замещённый бензальдегид (1.1 экв.), после чего реакционную смесь подвергали микроволновой радиации при 140 °С в течение 60 минут. После охлаждения реакционной смеси получающийся жёлтый осадок отфильтровывали, промывали уксусной кислотой и перекристаллизовывали из этилового спирта.

(Z)-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он (70) [176]

Из 1.16 г 2-тиогидантоина (0.01 моль, 1 экв.), 1.546 г 4-хлорбензальдегида (0.011 моль, 1.1 экв.) и 1.08 г (0.011 моль, 1.1 экв.) ацетата калия получено 1.96 г жёлтого кристаллического вещества. Выход 82%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.41 (уш. с., 1H, NH(1)), 12.19 (уш. с., 1H, NH(3)), 7.77 – 7.73 (м., 2H, аромат.), 7.47 – 7.43 (м., 2H, аромат.), 6.46 (с., 1H, -C=CH-).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 179.40, 165.71, 133.72, 131.79, 131.29, 128.76, 128.16, 109.98.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₀H₇ClN₂OS + H]⁺: 239.0040; найдено 239.0049.

(Z)-5-(4-бромбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он (48)[176]

Из 1.16 г 2-тиогидантоина (0.01 моль, 1 экв.), 2.03 г 4-бромбензальдегида (0.011 моль, 1.1 экв.) и 1.08 г (0.011 моль, 1.1 экв.) ацетата калия получено 2.18 г жёлтого кристаллического вещества. Выход 77%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.42 (уш. с., 1H, NH(1)), 12.19 (уш. с., 1H, NH(3)), 7.69 – 7.66 (м., 2H, аромат.), 7.61 – 7.57 (м., 2H, аромат.), 6.44 (с., 1H, -C=CH-).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 179.40, 165.71, 131.98, 131.67, 131.61, 128.22, 122.53, 110.02.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₀H₇BrN₂OS + H]⁺: 282.9535; найдено 282.9538.

(Z)-5-(4-метоксибензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он (49)[176]

Из 1.16 г 2-тиогидантоина (0.01 моль, 1 экв.), 1.50 г 4-метоксибензальдегида (0.011 моль, 1.1 экв.) и 1.08 г (0.011 моль, 1.1 экв.) ацетата калия получено 1.59 г жёлтого кристаллического вещества. Выход 68%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.26 (уш. с., 1H, NH(1)), 12.02 (уш. с., 1H, NH(3)), 7.72 – 7.74 (м., 2H, аромат.), 6.96 – 6.99 (м., 3H, аромат.), 6.46 (с., 1H, -C=CH-), 3.81 (с., 3H, OCH₃).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 178.54, 165.72, 160.19, 132.05, 125.84, 124.83, 114.32, 112.04, 55.30.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₁H₁₀N₂OS + H]⁺: 235.0536; найдено 235.0542.

4.5.9. (Z)-5-(3,4-дифторбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он (50)

Из 1.16 г 2-тиогидантоина (0.01 моль, 1 экв.), 1.563 г 3,4-дифторбензальдегида (0.011 моль, 1.1 экв.) и 1.08 г (0.011 моль, 1.1 экв.) ацетата калия получено 2.09 г жёлтого кристаллического вещества. Выход 87%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.44 (с., 1 H, NH(1)), 12.25 (с., 1 H, NH(3)), 7.81 – 7.93 (м., 1 H, аромат.), 7.53 – 7.60 (м., 1 H, аромат.), 7.40 – 7.51 (м., 1 H, аромат.), 6.45 (с., 1 H, -C=CH-).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 179.61, 165.71, 150.84 (т., $J_{CF} = 11.9$ Гц), 148.37 (дд., $J_{CF} = 12.8, 7.1$ Гц), 130.10 (дд., $J_{CF} = 6.8, 3.8$ Гц), 128.31 (д., $J_{CF} = 2.4$ Гц), 127.81 (дд., $J_{CF} = 6.6, 3.3$ Гц), 118.52 (д., $J_{CF} = 18.0$ Гц), 117.87 (д., $J_{CF} = 17.4$ Гц), 109.08.

^{19}F ЯМР (ДМСО- d_6 , 376 МГц, δ , м.д.): -136.63, -138.28.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₀H₆F₂N₂OS + H]⁺: 241.0242; найдено 241.0232.

Общая методика получения диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-диононов



К кипящему раствору 5-арилидензамещённого 2-тиогидантоина (1 экв.) и саркозина (2-3 экв.) в 95% этаноле (10 мл/1 ммоль) добавляли соответствующий изатин (2 экв.) тремя порциями в течение 30 минут и кипятили реакционную смесь в течение 6-8 часов (контроль реакции по ТСХ, элюент — ПЭ/ЭА 2:1). После завершения реакции и охлаждения раствора до комнатной температуры к нему добавляли одинаковый по объёму насыщенный водный раствор NaCl и двукратный по объёму избыток холодной воды, в результате наблюдали выпадение осадка. Полученный твёрдый осадок фильтровали и сушили на воздухе, после чего проводили очистку перекристаллизацией из 95% этанола или колоночной хроматографией (элюент — ПЭ/ЭА 3:1), получая твёрдый продукт белого цвета.

Получение монодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дионов **51-55**

(2'S,4R*,4'R*)-1'-метил-2-тиооксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (51)*

Из 0.36 г (1.5 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **47**, 0.27 г (3 ммоль, 2 экв.) саркозина, 0.444 г (3 ммоль, 2 экв.) изагина после перекристаллизации из 95%-го этанола получили 0.53 г соединения **51** в виде белого порошка. Выход 80%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 11.48 (с., 1H, NH(1'')), 10.55 (с., 1H, NH(3)), 9.27 (с., 1H, NH(1)), 7.42 – 7.40 (м., 2H, аромат.), 7.32 – 7.27 (м., 3H, аромат.), 7.22 – 7.19 (м., 1H, аромат.), 6.99 – 6.95 (м., 1H, аромат.), 6.75 – 6.72 (м., 2H, аромат.), 4.10 (т., J = 9.2 Гц, 1H, пирролидин), 3.74 (т., J = 9.1 Гц, 1H, пирролидин), 3.32 (т., J = 8.4 Гц, 1H, пирролидин), 2.01 (с., 3H, NCH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 181.09, 175.03, 174.19, 142.74, 134.14, 132.24 (2C), 131.45, 129.86, 128.41, 127.21 (2C), 124.14, 109.80, 77.57, 77.08, 56.53, 50.08, 34.64, 18.59.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₀H₁₇ClN₄O₂S + H]⁺: 413.0833; найдено 413.0851.

(2'S,4R*,4'R*)-5''-бром-1'-метил-2-тиооксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (52)*

Из 0.24 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **47**, 0.18 г (2 ммоль, 2 экв.) саркозина, 0.45 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизагина после перекристаллизации из 95%-го этанола получили 0.43 г соединения **52** в виде белого порошка. Выход 88%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 11.61 (с., 1H, NH(1'')), 10.70 (с., 1H, NH(3)), 9.70 (с., 1H, NH(1)), 7.51 – 7.47 (м., 3H, аромат.), 7.42 – 7.40 (м., 2H, аромат.), 7.35 – 7.32 (м., 1H, аромат.), 6.73 – 6.69 (м., 2H, аромат.), 4.14 (т., J = 7.7 Гц, 1H, пирролидин), 3.76 (т., J = 8.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.41 (т., J = 9.2 Гц, 1H, пирролидин), 2.09 (с., 3H, NCH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 181.09, 174.52, 174.12, 142.02, 133.85, 132.65, 132.28 (2C), 131.44, 129.76 (2C), 128.39, 126.71, 113.57, 111.77, 77.74, 77.16, 56.41, 50.07, 34.72.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₀H₁₆BrClN₄O₂S + H]⁺: 490.9938; найдено 490.9934.

(2'S,4R*,4'R*)-5''-бром-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2-тиооксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (53)*

Из 0.28 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **48**, 0.18 г (2 ммоль, 2 экв.) саркозина, 0.45 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после перекристаллизации из 95%-го этанола получили 0.42 г соединения **53** в виде белого порошка. Выход 78%.

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆, 400 МГц, δ , м.д.): 11.63 (с., 1H, NH(1'')), 10.73 (с., 1H, NH(3)), 9.73 (с., 1H, NH(1)), 7.53 – 7.50 (м., 2H, аромат.), 7.49 – 7.46 (м., 2H, аромат.), 7.37 – 7.33 (м., 2H, аромат.), 6.79 – 6.76 (м., 2H, аромат.), 4.14 (т., $J = 8.5$ Гц, 1H, пирролидин), 3.80 (т., $J = 8.4$ Гц, 1H, пирролидин), 3.4 (т., $J = 9.2$ Гц, 1H, пирролидин), 2.09 (с., 3H, NCH₃).

¹³C ЯМР (ДМСО-*d*₆, 101 МГц, δ , м.д.): 181.04, 174.47, 174.07, 142.01, 134.26, 132.65 (2C), 131.79, 131.29, 129.73, 126.68 (2C), 120.90, 113.55, 111.76, 77.69, 77.15, 56.33, 50.08, 34.72.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₀H₁₆Br₂N₄O₂S + H]⁺: 534.9433; найдено 534.9444.

(2'S*,4R*,4'R*)-5''-бром-1'-метил-4'-(4-метоксифенил)-2-тиооксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (54)

Из 0.23 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **49**, 0.18 г (2 ммоль, 2 экв.) саркозина, 0.45 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после перекристаллизации из 95%-го этанола получили 0.36 г соединения **54** в виде белого порошка. Выход 74%.

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆, 400 МГц, δ , м.д.): 11.56 (с., 1H, NH(1'')), 10.71 (с., 1H, NH(3)), 9.54 (с., 1H, NH(1)), 7.52 (с., 1H, аромат.), 7.45 (д., $J = 6.4$ Гц, 1H, аромат.), 7.29 (д., $J = 8.6$ Гц, 2H, аромат.), 6.87 (д., $J = 8.7$ Гц, 2H, аромат.), 6.77 (д., $J = 8.3$ Гц, 1H, аромат.), 4.14 – 4.06 (м., 1H, пирролидин), 3.82 – 3.74 (м., 1H, пирролидин), 3.73 (с., 3H, OCH₃), 3.40 – 3.35 (м., 1H, пирролидин), 2.10 (с., 3H, NCH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₁H₁₉BrN₄O₃S + H]⁺: 487.0433; найдено 487.0434.

(2'S*,4R*,4'R*)-5''-бром-1'-метил-2-тиооксо-4'-(3,4-дифторфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (55)

Из 0.24 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **50**, 0.18 г (2 ммоль, 2 экв.) саркозина, 0.45 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после перекристаллизации из 95%-го этанола получили 0.42 г соединения **55** в виде белого порошка. Выход 85%.

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆, 400 МГц, δ , м.д.): 11.62 (с., 1H, NH(1'')), 10.73 (с., 1H, NH(3)), 9.82 (с., 1H, NH(1)), 7.62 – 7.52 (м., 1H, аромат.), 7.52 – 7.46 (м., 1H, аромат.), 7.46 – 7.39 (м., 1H, аромат.), 7.39 – 7.27 (м., 1H, аромат.), 7.13 (уш.с., 1H, аромат.), 6.76 (d, $J = 8.3$ Hz, 1H, аромат.), 4.15 (т., $J = 9.1$ Гц, 1H, пирролидин), 3.74 (т., $J = 9.4$ Гц, 1H, пирролидин), 3.40 (т., $J = 8.8$ Гц, 1H, пирролидин), 2.07 (с., 3H, NCH₃).

Из 6.56 г 6-аминогексановой кислоты (0.05 моль, 1 экв.), 50 мл этанола и 8.92 г тионилхлорида (0.075 моль, 1.5 экв., 5.4 мл) после перекристаллизации из этилацетата получили 9.29 г соединения **58** в виде белого порошка. Выход 95%.

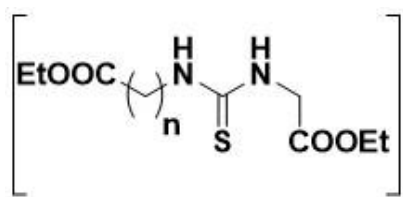
¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 8.09 (с., 3H, NH₃), 4.04 (к., J = 7.1 Гц, 2H, OCH₂), 2.78 – 2.65 (м., 2H, N-CH₂-), 2.27 (т., J = 7.3 Гц, 2H, C(O)-CH₂-), 1.61 – 1.42 (м., 4H, -(CH₂)₃-), 1.34 – 1.26 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 1.17 (т., J = 7.1 Гц, 3H, CH₃).

Гидрохлорид этилового эфира 9-аминононановой кислоты (59)

Из 8.66 г 9-аминононановой кислоты (0.05 моль, 1 экв.), 50 мл этанола и 8.92 г тионилхлорида (0.075 моль, 1.5 экв., 5.4 мл) после перекристаллизации из этилацетата получили 10.7 г соединения **59** в виде белого порошка. Выход 90%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 8.08 (с., 3H, NH₃), 4.03 (к., J = 7.1 Гц, 2H, OCH₂), 2.77 – 2.67 (м., 2H, N-CH₂-), 2.26 (т., J = 7.4 Гц, 2H, C(O)-CH₂-), 1.61 – 1.45 (м., 4H, -(CH₂)₆-), 1.34 – 1.20 (м., 8H, -(CH₂)₆-), 1.16 (т., J = 7.1 Гц, 3H, CH₃).

Синтез производных тиомочевин 60-63



Соответствующий гидрохлорид аминокислоты **56-59** (1 экв.) растворяли в метаноле (2 мл/1 ммоль), после чего при интенсивном перемешивании добавляли триэтиламин (1 экв.), а затем по каплям изотиоцианатэтилацетат (1 экв.). Перемешивание продолжали в течение 3 часов при комнатной температуре, после чего растворитель упаривали при пониженном давлении, получая продукт **60-63** в виде густого масла. Полученное производное тиомочевины использовали без дальнейшей очистки.

Этиловый эфир 2-(3-(2-оксоэтил-2-этокси)тиоуреидо)уксусной кислоты (60)

Из 1.396 г соединения **56** (10 ммоль, 1 экв.), 1.012 г триэтиламина (10 ммоль, 1 экв., 1.4 мл) и 1.452 г изотиоцианатэтилацетата (10 ммоль, 1 экв., 1.24 мл) получили 2.483 г вещества **60** и виде густого светло-оранжевого масла. Выход количественный.

Этиловый эфир 5-(3-(2-оксоэтил-2-этокси)тиоуреидо)пентановой кислоты (61)

Из 1.817 г соединения **57** (10 ммоль, 1 экв.), 1.012 г триэтиламина (10 ммоль, 1 экв., 1.4 мл) и 1.452 г изотиоцианатэтилацетата (10 ммоль, 1 экв., 1.24 мл) получили 2.9 г вещества **61** и виде густого светло-оранжевого масла. Выход количественный.

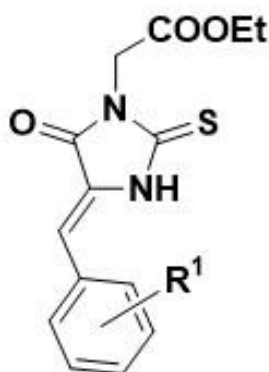
Этиловый эфир 6-(3-(2-оксоэтил-2-этокси)тиоуреидо)гексановой кислоты (62)

Из 1.96 г соединения **58** (10 ммоль, 1 экв.), 1.012 г триэтиламина (10 ммоль, 1 экв., 1.4 мл) и 1.452 г изотиоцианатэтилацетата (10 ммоль, 1 экв., 1.24 мл) получили 3.04 г вещества **62** и виде густого светло-оранжевого масла. Выход количественный.

Этиловый эфир 9-(3-(2-оксоэтил-2-этокси)тиоуреидо)нонановой кислоты (63)

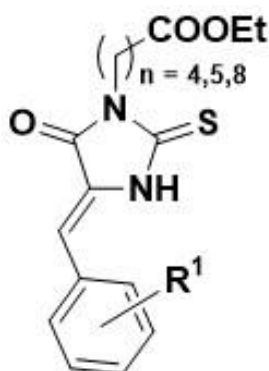
Из 2.38 г соединения **59** (10 ммоль, 1 экв.), 1.012 г триэтиламина (10 ммоль, 1 экв., 1.4 мл) и 1.452 г изотиоцианатэтилацетата (10 ммоль, 1 экв., 1.24 мл) получили 3.46 г вещества **63** и виде густого светло-оранжевого масла. Выход количественный.

Синтез 5-арилиден-2-тиогидантоинов 64-77



Метод А (64-69): Тиомочевину **60** (1 экв.) растворяли в 95% этаноле (10 мл/1 ммоль) и добавляли соответствующий бензальдегид (1.1 экв.), а затем твёрдый гидроксид калия (1 экв.). Полученный раствор тёмно-красного цвета перемешивали при комнатной температуре в течение 4-6 часов. После окончания реакции (контроль по ТСХ) добавляли небольшой избыток 1М водного раствора соляной кислоты, выпадающий осадок фильтровали, промывали водой и сушили на воздухе.

Твёрдый продукт очищали с помощью колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 5:1), либо перекристаллизацией из 95% этанола или ледяной уксусной кислоты.



Метод Б (70-77): Соответствующую тиомочевину **61-63** (1 экв.) растворяли в 95% этаноле (10 мл/1 ммоль) и добавляли соответствующий бензальдегид (1.1 экв.), а затем твёрдый гидроксид калия (1 экв.). Полученный раствор тёмно-красного цвета перемешивали при комнатной температуре в течение 4-6 часов. После окончания реакции (контроль по ТСХ) добавляли небольшой избыток 1М водного раствора соляной кислоты, наблюдая образование густого масла, которое экстрагировали

хлористым метиленом (3*30 мл). Органические фазы объединяли, промывали 50 мл насыщенного водного раствора NaCl и 50 мл воды, после чего сушили над безводным сульфатом натрия, добавляли силикагель и упаривали растворители при пониженном давлении, очищая остаток с помощью колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 5:1).

Этиловый эфир (Z)-2-(5-оксо-2-тиоксо-4-(4-хлорбензилиден)имидазолидин-1-ил)уксусной кислоты (64)

По методу А из 1.24 г тиомочевины **60** (5 ммоль, 1 экв.), 0.773 г 4-хлорбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после перекристаллизации из 95% этанола получили 0.997 г соединения **64** в виде оранжевого порошка. Выход 58%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.65 (с., 1H, NH), 7.82 (д., $J = 8.5$ Гц, 2H, аромат.), 7.51 (д., $J = 8.5$ Гц, 2H, аромат.), 6.72 (с., 1H, -C=CH-), 4.60 (с., 2H, N-CH₂-), 4.16 (к., $J = 7.1$ Гц, 2H, O-CH₂-), 1.21 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{O}_3\text{S} + \text{Na}]^+$: 347.0228; найдено 347.0232.

Этиловый эфир (Z)-2-(4-(4-бромбензилиден)-5-оксо-2-тиоксоимидазолидин-1-ил)уксусной кислоты (65)

По методу А из 1.24 г тиомочевины **60** (5 ммоль, 1 экв.), 1.018 г 4-бромбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после перекристаллизации из 95% этанола получили 1.51 г соединения **65** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 54%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.67 (с., 1H, NH), 7.74 (д., $J = 8.5$ Гц, 2H, аромат.), 7.63 (д., $J = 8.5$ Гц, 2H, аромат.), 6.70 (с., 1H, -C=CH-), 4.60 (с., 2H, N-CH₂-), 4.16 (к., $J = 7.1$ Гц, 2H, O-CH₂-), 1.21 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{14}\text{H}_{13}\text{BrN}_2\text{O}_3\text{S} + \text{Na}]^+$: 390.9722; найдено 390.9727.

Этиловый эфир (Z)-2-(4-(4-метоксибензилиден)-5-оксо-2-тиоксоимидазолидин-1-ил)уксусной кислоты (66)

По методу А из 1.24 г тиомочевины **60** (5 ммоль, 1 экв.), 0.68 г 4-метоксибензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после перекристаллизации из ледяной уксусной кислоты получили 0.583 г соединения **66** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 36%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.52 (с., 1H, NH), 7.80 (д., $J = 8.8$ Гц, 2H, аромат.), 7.01 (д., $J = 8.8$ Гц, 2H, аромат.), 6.70 (с., 1H, -C=CH-), 4.59 (с., 2H, N-CH₂-), 4.16 (к., $J = 7.1$ Гц, 2H, O-CH₂-), 3.83 (с., 3H, OCH₃), 1.21 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 177.51, 166.88, 163.52, 160.62, 132.48 (2C), 124.59, 123.91, 114.46 (2C), 114.43, 61.32, 55.39, 41.74, 13.97.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{15}\text{H}_{16}\text{N}_2\text{O}_4\text{S} + \text{Na}]^+$: 343.0723; найдено 343.0726.

Этиловый эфир (Z)-2-(5-оксо-2-тиоксо-4-(3,4-дифторбензилиден)имидазолидин-1-ил)уксусной кислоты (67)

По методу А из 1.24 г тиомочевины **60** (5 ммоль, 1 экв.), 0.71 г 3,4-дифторбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после перекристаллизации из ледяной уксусной кислоты получили 0.72 г соединения **67** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 44%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.57 (с., 1H, NH), 7.95 (ддд., J = 12.0, 7.8, 2.2 Гц, 1H, аромат.), 7.64 (т., J = 6.9 Гц, 1H, аромат.), 7.52 (дт., J = 10.5, 8.5 Гц, 1H, аромат.), 6.71 (с., 1H, -C=CH-), 4.60 (с., 2H, N-CH₂-), 4.16 (к., J = 7.1 Гц, 2H, O-CH₂-), 1.21 (т., J = 7.1 Гц, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 178.42, 166.77, 163.38, 128.10, 126.43 (д., J_{CF} = 2.1 Гц), 118.81 (д., J_{CF} = 18.2 Гц), 117.94 (д., J_{CF} = 17.7 Гц), 111.33, 61.40, 41.79, 13.97.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₄H₁₃BrN₂O₃S + Na]⁺: 349.0429; найдено 349.0432.

Этиловый эфир (Z)-2-(5-оксо-2-тиоксо-4-(3-хлорбензилиден)имидазолидин-1-ил)уксусной кислоты (68)

По методу А из 1.24 г тиомочевины **60** (5 ммоль, 1 экв.), 0.773 г 3-хлорбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 5:1) получили 0.779 г соединения **68** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 48%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.78 (с., 1H, NH), 7.89 (с., 1H, аромат.), 7.73 – 7.69 (м., 1H, аромат.), 7.49 – 7.43 (м., 2H, аромат.), 6.69 (с., 1H, -C=CH-), 4.60 (с., 2H, N-CH₂-), 4.16 (к., J = 7.2 Гц, 2H, O-CH₂-), 1.21 (т., J = 7.2 Гц, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 178.50, 166.86, 163.47, 134.13, 133.78, 130.56, 129.34 (2C), 129.23, 126.84, 111.93, 61.47, 41.83, 14.03.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₄H₁₃ClN₂O₃S + Na]⁺: 347.0228; найдено 347.0236.

Этиловый эфир (Z)-2-(4-бензилиден-5-оксо-2-тиоксоимидазолидин-1-ил)уксусной кислоты (69)

По методу А из 1.24 г тиомочевины **60** (5 ммоль, 1 экв.), 0.584 г бензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 5:1) получили 0.668 г соединения **69** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 46%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.63 (с., 1H, NH), 7.89 – 7.72 (м., 2H, аромат.), 7.56 – 7.37 (м., 3H, аромат.), 6.72 (с., 1H, -C=CH-), 4.60 (с., 2H, N-CH₂-), 4.16 (к., *J* = 7.2 Гц, 2H, O-CH₂-), 1.19 (т., *J* = 7.2 Гц, 3H, CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₄H₁₄ClN₂O₃S + K]⁺: 329.0362; найдено 329.0357.

Этиловый эфир (Z)-5-(5-оксо-2-тиоксо-4-(4-хлорбензилиден)имидазолидин-1-ил)пентановой кислоты (70)

По методу Б из 1.452 г тиомочевины **61** (5 ммоль, 1 экв.), 0.773 г 4-хлорбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 5:1) получили 0.298 г ярко-жёлтого твёрдого остатка, в котором содержание соединения **70** составило 0.165 г (вычислено по данным ¹H ЯМР анализа с CH₂Br₂ в качестве внутреннего стандарта). Выход 9%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.67 (с., 1H, NH), 7.85 – 7.76 (м., 2H, аромат.), 7.54 – 7.45 (м., 2H, аромат.), 6.72 (с., 1H, -C=CH-), 4.16 (к., *J* = 7.1 Гц, 2H, O-CH₂-), 3.77 (т., *J* = 7.3 Гц, 2H, N-CH₂-), 2.25 (т., *J* = 7.4 Гц, 2H, -CH₂-C(O)-), 1.66 – 1.54 (м., 2H, -(CH₂)₂-), 1.30 – 1.23 (м., 2H, -(CH₂)₂-), 1.21 (т., *J* = 7.1 Гц, 3H, CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₇H₁₉ClN₂O₃S + H]⁺: 367.0883; найдено 367.0885.

Этиловый эфир (Z)-5-(4-(4-бромбензилиден)-5-оксо-2-тиоксоимидазолидин-1-ил)пентановой кислоты (71)

По методу Б из 1.452 г тиомочевины **61** (5 ммоль, 1 экв.), 1.018 г 4-бромбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 5:1) получили 0.423 г ярко-жёлтого твёрдого остатка, в котором содержание соединения **71** составило 0.226 г (вычислено по данным ¹H ЯМР анализа с CH₂Br₂ в качестве внутреннего стандарта). Выход 11%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.65 (с., 1H, NH), 7.75 – 7.68 (м., 2H, аромат.), 7.65 – 7.55 (м., 2H, аромат.), 6.68 (с., 1H, -C=CH-), 4.15 (к., *J* = 7.1 Гц, 2H, O-CH₂-), 3.75 (т., *J* = 7.3 Гц, 2H, N-CH₂-), 2.23 (т., *J* = 7.4 Гц, 2H, -CH₂-C(O)-), 1.63 – 1.55 (м., 2H, -(CH₂)₂-), 1.28 – 1.21 (м., 2H, -(CH₂)₂-), 1.21 (т., *J* = 7.1 Гц, 3H, CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₇H₁₉ClN₂O₃S + H]⁺: 411.0378; найдено 411.0387.

Этиловый эфир (Z)-6-(5-оксо-2-тиоксо-4-(4-хлорбензилиден)имидазолидин-1-ил)гексановой кислоты (72)

По методу Б из 1.522 г тиомочевины **62** (5 ммоль, 1 экв.), 0.773 г 4-хлорбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 5:1) получили 0.59 г соединения **72** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 31%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.43 (с., 1H, NH), 7.82 – 7.75 (м., 2H, аромат.), 7.51 – 7.45 (м., 2H, аромат.), 6.61 (с., 1H, -C=CH-), 4.03 (к., *J* = 7.1 Гц, 2H, O-CH₂-), 3.77 (т., *J* = 7.3 Гц, 2H, N-CH₂-), 2.27 (т., *J* = 7.4 Гц, 2H, -CH₂-C(O)-), 1.67 – 1.48 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 1.32 – 1.18 (м., 4H, -(CH₂)₃-), 1.16 (т., *J* = 7.1 Гц, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 178.88, 172.80, 164.04, 133.96, 131.97 (2C), 128.83 (2C), 126.53, 111.28, 61.44, 59.69, 40.38, 33.30, 26.85, 25.52, 24.06, 14.14.

HRMS-ESI: *m/z* рассчитано для [C₁₈H₂₁ClN₂O₃S + Na]⁺: 403.0854; найдено 403.0856.

Этиловый эфир (Z)-6-(4-(4-бромбензилиден)-5-оксо-2-тиоксоимидазолидин-1-ил)гексановой кислоты (73)

По методу Б из 1.522 г тиомочевины **62** (5 ммоль, 1 экв.), 1.018 г 4-бромбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 5:1) получили 0.617 г соединения **73** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 29%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.39 (с., 1H, NH), 7.78 – 7.67 (м., 2H, аромат.), 7.67 – 7.57 (м., 2H, аромат.), 6.58 (с., 1H, -C=CH-), 4.03 (к., *J* = 7.1 Гц, 2H, O-CH₂-), 3.77 (т., *J* = 7.2 Гц, 2H, N-CH₂-), 2.27 (т., *J* = 7.4 Гц, 2H, -CH₂-C(O)-), 1.68 – 1.49 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 1.33 – 1.20 (м., 4H, -(CH₂)₃-), 1.16 (т., *J* = 7.1 Гц, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 178.85, 172.71, 163.97, 132.08 (2C), 131.69 (2C), 126.57, 122.73, 111.25, 61.37, 59.62, 40.34, 33.26, 26.78, 25.47, 24.00, 14.08.

HRMS-ESI: *m/z* рассчитано для [C₁₈H₂₁BrN₂O₃S + Na]⁺: 447.0348; найдено 447.0353.

Этиловый эфир (Z)-6-(5-оксо-2-тиоксо-4-(4-фторбензилиден)имидазолидин-1-ил)гексановой кислоты (74)

По методу Б из 1.522 г тиомочевины **62** (5 ммоль, 1 экв.), 0.683 г 4-фторбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 5:1) получили 0.784 г соединения **74** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 43%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.39 (с., 1H, NH), 7.86 – 7.79 (м., 2H, аромат.), 7.30 – 7.23 (м., 2H, аромат.), 6.63 (с., 1H, -C=CH-), 4.03 (к., $J = 7.1$ Гц, 2H, O-CH₂-), 3.77 (т., $J = 7.3$ Гц, 2H, N-CH₂-), 2.27 (т., $J = 7.4$ Гц, 2H, -CH₂-C(O)-), 1.68 – 1.50 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 1.32 – 1.19 (м., 4H, -(CH₂)₃-), 1.16 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₈H₂₁FN₂O₃S + Na]⁺: 387.1149; найдено 387.1152.

Этиловый эфир (Z)-6-(5-оксо-2-тиоксо-4-(3-хлорбензилиден)имидазолидин-1-ил)гексановой кислоты (75)

По методу Б из 1.522 г тиомочевины **62** (5 ммоль, 1 экв.), 0.773 г 3-хлорбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 5:1) получили 0.629 г соединения **75** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 33%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.54 (с., 1H, NH), 7.91 – 7.83 (м., 1H, аромат.), 7.75 – 7.63 (м., 1H, аромат.), 7.49 – 7.38 (м., 2H, аромат.), 6.59 (с., 1H, -C=CH-), 4.03 (к., $J = 7.1$ Гц, 2H, O-CH₂-), 3.77 (т., $J = 7.2$ Гц, 2H, N-CH₂-), 2.27 (т., $J = 7.4$ Гц, 2H, -CH₂-C(O)-), 1.67 – 1.48 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 1.34 – 1.19 (м., 4H, -(CH₂)₃-), 1.16 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃).

12.54 (с., 1H), 7.91 – 7.83 (м., 1H), 7.75 – 7.63 (м., 1H), 7.49 – 7.38 (м., 2H), 6.59 (с., 1H), 4.03 (к., $J = 7.1$ Гц, 2H), 3.77 (т., $J = 7.2$ Гц, 2H), 2.27 (т., $J = 7.4$ Гц, 2H), 1.67 – 1.48 (м., 2H), 1.34 – 1.19 (м., 4H), 1.16 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₈H₂₁ClN₂O₃S + Na]⁺: 403.0854; найдено 403.0857.

Этиловый эфир (Z)-9-(5-оксо-2-тиоксо-4-(4-хлорбензилиден)имидазолидин-1-ил)нонановой кислоты (76)

По методу Б из 1.732 г тиомочевины **63** (5 ммоль, 1 экв.), 0.773 г 4-хлорбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 5:1) получили 0.565 г ярко-жёлтого твёрдого остатка, в котором содержание соединения **76** составило 0.317 г (вычислено по данным ¹H ЯМР анализа с CH₂Br₂ в качестве внутреннего стандарта). Выход 15%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.42 (с., 1H, NH), 7.86 – 7.75 (м., 2H, аромат.), 7.55 – 7.44 (м., 2H, аромат.), 6.61 (с., 1H, -C=CH-), 4.03 (к., $J = 7.1$ Гц, 2H, O-CH₂-), 3.77 (т., $J = 7.3$ Гц, 2H, N-CH₂-), 2.25 (т., $J = 7.4$ Гц, 2H, -CH₂-C(O)-), 1.64 – 1.56 (м., 2H, -(CH₂)₆-), 1.53 – 1.45 (м., 2H, -(CH₂)₆-), 1.31 – 1.19 (м., 8H, -(CH₂)₆-), 1.16 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₁H₂₇ClN₂O₃S + H]⁺: 445.1329; найдено 445.1335.

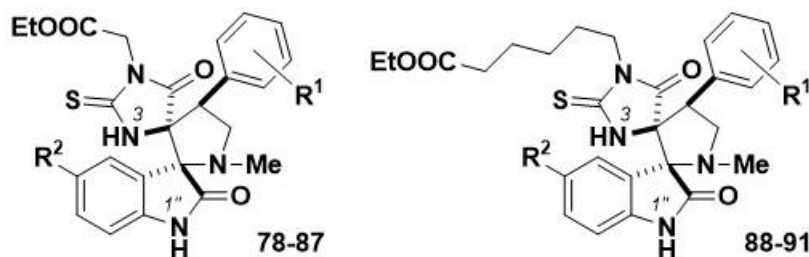
Этиловый эфир (Z)-9-(4-(4-бромбензилиден)-5-оксо-2-тиоксоимидазолидин-1-ил)нонановой кислоты (77)

По методу Б из 1.732 г тиомочевины **63** (5 ммоль, 1 экв.), 1.018 г 4-бромбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г гидроксида калия (5 ммоль, 1 экв.) после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 5:1) получили 0.725 г ярко-жёлтого твёрдого остатка, в котором содержание соединения **77** составило 0.397 г (вычислено по данным ^1H ЯМР анализа с CH_2Br_2 в качестве внутреннего стандарта). Выход 17%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.41 (с., 1H, NH), 7.77 – 7.68 (м., 2H, аромат.), 7.67 – 7.58 (м., 2H, аромат.), 6.58 (с., 1H, -C=CH-), 4.03 (к., $J = 7.1$ Гц, 2H, O-CH₂-), 3.77 (т., $J = 7.3$ Гц, 2H, N-CH₂-), 2.25 (т., $J = 7.4$ Гц, 2H, -CH₂-C(O)-), 1.62 – 1.58 (м., 2H, -(CH₂)₆-), 1.51 – 1.47 (м., 2H, -(CH₂)₆-), 1.32 – 1.19 (м., 8H, -(CH₂)₆-), 1.16 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{21}\text{H}_{27}\text{BrN}_2\text{O}_3\text{S} + \text{H}]^+$: 489.0823; найдено 489.0817.

Получение карбоксиэтил-производных монодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дионов 78-91



Этиловый эфир 2-((2'R*,4S*,4'S*)-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусной кислоты (78)

По общей методике получения диспироиндолинонов (стр. 134) из 0.325 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **64**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.294 г (2 ммоль, 2 экв.) изатина после перекристаллизации из 95%-го этанола получили 0.324 г соединения **78** в виде белого порошка. Выход 65%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.59 (с., 1H, NH(1'')), 10.26 (с., 1H, NH(3)), 7.46 – 7.33 (м., 5H, аромат.), 7.29 – 7.20 (м., 1H, аромат.), 7.05 – 6.94 (м., 1H, аромат.), 6.79 (д., $J = 7.7$ Гц, 1H, аромат.), 4.27 (т., $J = 9.2$ Гц, 1H, пирролидин), 4.17 (дд., $J = 20.3, 17.2$ Гц, 2H, N-CH₂-), 3.98 (к., $J = 7.1$ Гц, 2H, O-CH₂-), 3.88 (т., $J = 9.3$ Гц, 1H, пирролидин), 3.43 (т., $J = 8.8$ Гц, 1H, пирролидин), 2.07 (с., 3H, N-CH₃), 1.05 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.28, 174.49, 172.25, 166.21, 142.78, 133.90, 132.22, 131.55 (2С), 129.94, 128.28 (2С), 127.09, 123.65, 121.70, 109.85, 76.99, 76.27, 61.09, 56.24, 50.10, 41.43, 34.64, 13.93.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₄H₂₃ClN₄O₄S + Na]⁺: 521.1021; найдено 521.1018.

Этиловый эфир 2-((2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусной кислоты (79)*

Из 0.325 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **64**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.306 г соединения **79** в виде белого порошка. Выход 53%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.72 (с., 1H, NH(1'')), 10.43 (с., 1H, NH(3)), 7.56 – 7.51 (м., 1H, аромат.), 7.45 – 7.33 (м., 5H, аромат.), 6.76 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.26 (т., J = 9.1 Гц, 1H, пирролидин), 4.18 (дд., J = 17.1, 16.0 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.98 (к., J = 7.1 Гц, 2H, O-CH₂-), 3.85 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.45 (т., J = 8.8 Гц, 1H, пирролидин), 2.10 (с., 3H, N-CH₃), 1.06 (т., J = 7.1 Гц, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.16, 173.96, 171.91, 166.09, 141.96, 133.58, 132.67, 132.26, 131.50 (2С), 129.77, 128.25 (2С), 126.18, 113.60, 111.75, 77.13, 76.32, 61.08, 56.13, 50.17, 41.41, 34.70, 13.92.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₄H₂₂BrClN₄O₄S + Na]⁺: 599.0126; найдено 599.0138.

Этиловый эфир 2-((2'R,4S*,4'S*)-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-5''-хлордиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусной кислоты (80)*

Из 0.369 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **65**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.363 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-хлоризатина после перекристаллизации из 95%-го этанола получили 0.387 г соединения **80** в виде белого порошка. Выход 63%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.70 (с., 1H, NH(1'')), 10.38 (с., 1H, NH(3)), 7.49 (д., J = 8.5 Гц, 2H, аромат.), 7.42 (д., J = 2.2 Гц, 1H, аромат.), 7.35 (д., J = 8.5 Гц, 2H, аромат.), 7.30 (дд., J = 8.3, 2.2 Гц, 1H, аромат.), 6.80 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.27 (т., J = 9.0 Гц, 1H, пирролидин), 4.22 (дд., J = 17.2, 13.3 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.98 (к., J = 7.1 Гц, 2H, O-CH₂-), 3.85 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.46 (т., J = 8.8 Гц, 1H, пирролидин), 2.10 (с., 3H, N-CH₃), 1.06 (т., J = 7.1 Гц, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.12, 174.05, 166.05, 141.52, 133.98, 131.79 (2С), 131.12 (2С), 129.77, 127.08, 125.81, 125.78, 120.88, 111.19, 77.16, 76.20, 61.02, 56.04, 50.20, 41.40, 34.64, 18.53, 13.86.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₄H₂₂BrClN₄O₄S + Na]⁺: 599.0126; найдено 599.0132.

Этиловый эфир 2-((2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусной кислоты (81)*

Из 0.369 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **65**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.299 г соединения **81** в виде белого порошка. Выход 48%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.72 (с., 1H, NH(1'')), 10.44 (с., 1H, NH(3)), 7.53 (д., J = 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.49 (д., J = 8.5 Гц, 2H, аромат.), 7.43 (дд., J = 8.3, 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.35 (д., J = 8.5 Гц, 2H, аромат.), 6.75 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.29 – 4.13 (м., 3H, -N-CH₂- + H-пирролидин), 3.99 (к., J = 7.1 Гц, 2H, O-CH₂-), 3.85 (т., J = 9.3 Гц, 1H, пирролидин), 3.45 (т., J = 8.8 Гц, 1H, пирролидин), 2.10 (с., 3H, N-CH₃), 1.06 (т., J = 7.1 Гц, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.17, 173.95, 171.92, 166.10, 141.97, 134.02, 132.68, 131.86 (2С), 131.17 (2С), 129.77, 126.17, 120.93, 113.60, 111.75, 77.14, 76.27, 61.09, 56.08, 50.20, 41.41, 34.70, 13.93.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₄H₂₂Br₂N₄O₄S + Na]⁺: 642.9621; найдено 642.9627.

Этиловый эфир 2-((2'R,4S*,4'S*)-1'-метил-4'-(4-метоксифенил)-2'',5-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусной кислоты (82)*

Из 0.320 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **66**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.294 г (2 ммоль, 2 экв.) изатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.376 г соединения **82** в виде белого порошка. Выход 65%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.56 (с., 1H, NH(1'')), 10.04 (с., 1H, NH(3)), 7.38 (д., J = 7.5 Гц, 1H, аромат.), 7.33 (д., J = 8.8 Гц, 2H, аромат.), 7.28 – 7.19 (м., 1H, аромат.), 7.03 – 6.94 (м., 1H, аромат.), 6.86 (д., J = 8.8 Гц, 2H, аромат.), 6.78 (д., J = 7.7 Гц, 1H, аромат.), 4.23 (т., J = 9.3 Гц, 1H, пирролидин), 4.15 (дд., J = 17.1, 16.4 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.97 (к., J = 7.1 Гц, 2H, O-CH₂-), 3.86 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.72 (с., 3H, OCH₃), 3.39 (т., J = 8.9 Гц, 1H, пирролидин), 2.07 (с., 3H, N-CH₃), 1.05 (т., J = 7.1 Гц, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.14, 174.63, 172.24, 166.20, 158.58, 142.71, 130.74 (2С), 129.84, 127.15, 126.56, 123.86, 121.66, 113.72 (2С), 109.81, 77.11, 76.34, 61.05, 56.58, 55.01, 50.30, 41.41, 34.68, 13.93.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₅H₂₆N₄O₅S + Na]⁺: 517.1516; найдено 517.1523.

Этиловый эфир 2-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-4'-(4-метоксифенил)-2'',5-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусной кислоты (83)

Из 0.320 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **66**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.401 г соединения **83** в виде белого порошка. Выход 70%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.70 (с., 1H, NH(1'')), 10.25 (с., 1H, NH(3)), 7.53 (д., J = 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.43 (дд., J = 8.3, 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.31 (д., J = 8.8 Гц, 2H, аромат.), 6.85 (д., J = 8.7 Гц, 2H, аромат.), 6.75 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.27 – 4.10 (м., 3H, -N-CH₂- + H-пирролидин), 3.98 (к., J = 7.1 Гц, 2H, O-CH₂-), 3.82 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.72 (с., 3H, OCH₃), 3.42 (т., J = 8.9 Гц, 1H, пирролидин), 2.10 (с., 3H, N-CH₃), 1.06 (т., J = 7.1 Гц, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.05, 174.11, 171.99, 166.12, 158.61, 141.94, 132.59, 130.72 (2С), 129.81, 126.42, 126.24, 113.70 (2С), 113.55, 111.72, 77.24, 76.43, 61.07, 56.47, 55.00, 50.41, 41.39, 34.74, 13.93.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₅H₂₅BrN₄O₅S + Na]⁺: 595.0621; найдено 595.0635.

Этиловый эфир 2-((2'R*,4S*,4'S*)-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(3,4-дифторфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусной кислоты (84)

Из 0.326 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **67**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.294 г (2 ммоль, 2 экв.) изатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.325 г соединения **84** в виде белого порошка. Выход 65%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.60 (с., 1H, NH(1'')), 10.35 (с., 1H, NH(3)), 7.63 – 7.53 (м., 1H, аромат.), 7.34 (к., J = 9.5 Гц, 1H, аромат.), 7.25 (тд., J = 7.7, 1.1 Гц, 1H, аромат.), 7.19 – 7.11 (м., 1H, аромат.), 6.98 (тд., J = 7.7, 1.1 Гц, 1H, аромат.), 6.79 (д., J = 7.7 Гц, 1H, аромат.), 4.28 (т., J = 9.1 Гц, 1H, пирролидин), 4.19 (дд., J = 25.7, 17.2 Гц, 2H, N-CH₂-), 4.00 (к., J

= 7.1 Гц, 2H, O-CH₂-), 3.85 (т., $J = 9.3$ Гц, 1H, пирролидин), 3.45 (т., $J = 8.8$ Гц, 1H, пирролидин), 2.06 (с., 3H, N-CH₃), 1.07 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ , м.д.): 180.48, 174.55, 172.38, 166.25, 142.86, 130.02, 127.01, 123.56, 121.79, 118.33 (д., $J_{CF} = 181.7$ Гц), 118.81, 109.90, 76.79, 76.22, 61.14, 56.49, 49.86, 41.44, 34.58, 13.92.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₄H₂₂F₂N₄O₄S + Na]⁺: 523.1222; найдено 523.1229.

Этиловый эфир 2-((2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(3,4-дифторфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусной кислоты (85)*

Из 0.326 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **67**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.406 г соединения **85** в виде белого порошка. Выход 70%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ , м.д.): 10.74 (с., 1H, NH(1'')), 10.50 (с., 1H, NH(3)), 7.62 – 7.53 (м., 1H, аромат.), 7.51 (д., $J = 2.0$ Гц, 1H, аромат.), 7.44 (дд., $J = 8.2, 2.0$ Гц, 1H, аромат.), 7.35 (дд., $J = 10.5, 8.7$ Гц, 1H, аромат.), 7.20 – 7.12 (м., 1H, аромат.), 6.76 (д., $J = 8.3$ Гц, 1H, аромат.), 4.31 – 4.12 (м., 3H, -N-CH₂- + H-пирролидин), 3.99 (к., $J = 7.1$ Гц, 2H, O-CH₂-), 3.81 (т., $J = 9.4$ Гц, 1H, пирролидин), 3.47 (т., $J = 8.9$ Гц, 1H, пирролидин), 2.09 (с., 3H, N-CH₃), 1.07 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₄H₂₁BrF₂N₄O₄S + Na]⁺: 601.0327; найдено 601.0341.

Этиловый эфир 2-((2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(3-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусной кислоты (86)*

Из 0.325 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **68**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.416 г соединения **86** в виде белого порошка. Выход 72%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ , м.д.): 10.72 (с., 1H, NH(1'')), 10.49 (с., 1H, NH(3)), 7.57 – 7.39 (м., 4H, аромат.), 7.38 – 7.29 (м., 2H, аромат.), 6.76 (д., $J = 8.2$ Гц, 1H, аромат.), 4.31 – 4.12 (м., 3H, -N-CH₂- + H-пирролидин), 4.07 – 3.93 (м., 2H, O-CH₂-), 3.86 (т., $J = 9.4$ Гц, 1H, пирролидин), 3.52 – 3.41 (м., 1H, пирролидин), 2.10 (с., 3H, N-CH₃), 1.07 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 180.24, 173.96, 172.00, 166.07, 142.02, 137.08, 133.01, 132.70, 130.02, 129.76, 129.53, 128.48, 127.64, 126.15, 113.62, 111.76, 77.09, 76.28, 61.10, 56.17, 50.28, 41.41, 34.68, 13.93.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{24}\text{H}_{22}\text{BrClN}_4\text{O}_4\text{S} + \text{Na}]^+$: 599.0126; найдено 599.0135.

Этиловый эфир 2-((2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-фенилдиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусной кислоты (87)*

Из 0.29 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **69**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.467 г соединения **87** в виде белого порошка. Выход 86%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.72 (с., 1H, NH(1'')), 10.27 (с., 1H, NH(3)), 7.57 – 7.51 (м., 1H, аромат.), 7.48 – 7.35 (м., 3H, аромат.), 7.35 – 7.21 (м., 3H, аромат.), 6.76 (д., $J = 8.3$ Гц, 1H, аромат.), 4.33 – 4.10 (м., 3H, -N-CH₂- + H-пирролидин), 4.04 – 3.93 (м., 2H, O-CH₂-), 3.89 (т., $J = 9.4$ Гц, 1H, пирролидин), 3.51 – 3.41 (м., 1H, пирролидин), 2.11 (с., 3H, N-CH₃), 1.06 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{24}\text{H}_{23}\text{BrN}_4\text{O}_4\text{S} + \text{Na}]^+$: 565.0521; найдено 565.0530.

Этиловый эфир 6-((2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)гексановой кислоты (88)*

Из 0.381 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **72**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.330 г соединения **88** в виде белого порошка. Выход 52%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.73 (с., 1H, NH(1'')), 10.09 (с., 1H, NH(3)), 7.55 – 7.47 (м., 1H, аромат.), 7.45 – 7.32 (м., 5H, аромат.), 6.76 (д., $J = 8.0$ Гц, 1H, аромат.), 4.29 – 4.13 (м., 2H, N-CH₂- + H-пирролидин), 4.01 (к., $J = 7.1$ Гц, 2H, O-CH₂-), 3.85 (т., $J = 9.4$ Гц, 1H, пирролидин), 3.51 – 3.37 (м., 2H, N-CH₂- + H-пирролидин), 2.16 – 2.06 (м., 5H, N-CH₃ + -CH₂-C(O)-), 1.42 – 1.28 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 1.17 (т., $J = 7.1$ Гц, 3H, CH₃), 1.13 – 1.03 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 0.90 – 0.67 (м., 2H, -(CH₂)₃-).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 181.22, 174.54, 172.70, 172.58, 142.08, 133.69, 132.68, 132.30, 131.51 (2C), 129.70, 128.35 (2C), 126.37, 113.61, 111.71, 77.13, 75.95, 59.68, 56.53, 49.97, 34.72, 33.28, 30.72, 26.47, 25.02, 24.02, 14.16.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{28}\text{H}_{30}\text{BrClN}_4\text{O}_4\text{S} + \text{Na}]^+$: 655.0752; найдено 655.0766.

Этиловый эфир 6-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)гексановой кислоты (89)

Из 0.425 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **73**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.353 г соединения **89** в виде белого порошка. Выход 52%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.73 (с., 1H, NH(1'')), 10.09 (с., 1H, NH(3)), 7.55 – 7.45 (м., 3H, аромат.), 7.45 – 7.39 (м., 1H, аромат.), 7.39 – 7.27 (м., 2H, аромат.), 6.75 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.29 – 4.12 (м., 2H, N-CH₂- + Н-пирролидин), 4.02 (к., J = 7.1 Гц, 2H, O-CH₂-), 3.86 (т., J = 9.5 Гц, 1H, пирролидин), 3.52 – 3.35 (м., 2H, N-CH₂- + Н-пирролидин), 2.17 – 2.06 (м., 5H, N-CH₃ + -CH₂-C(O)-), 1.44 – 1.27 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 1.17 (т., J = 7.1 Гц, 3H, CH₃), 1.14 – 1.02 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 0.94 – 0.66 (м., 2H, -(CH₂)₃-).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 181.22, 174.51, 172.68, 172.58, 142.07, 134.10, 132.67, 131.85 (2C), 131.25 (2C), 129.68, 126.35, 120.92, 113.60, 111.69, 77.12, 75.89, 59.67, 50.20, 49.99, 34.71, 33.28, 26.46, 25.02, 24.02, 14.16.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₈H₃₀Br₂N₄O₄S + Na]⁺: 699.0247; найдено 699.0258.

Этиловый эфир 6-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(4-фторфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)гексановой кислоты (90)

Из 0.364 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **74**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.327 г соединения **90** в виде белого порошка. Выход 53%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.72 (с., 1H, NH(1'')), 10.05 (с., 1H, NH(3)), 7.56 – 7.48 (м., 1H, аромат.), 7.47 – 7.35 (м., 3H, аромат.), 7.17 – 7.06 (м., 2H, аромат.), 6.76 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.31 – 4.11 (м., 2H, N-CH₂- + Н-пирролидин), 4.03 (к., J = 7.1 Гц, 2H, O-CH₂-), 3.85 (т., J = 9.5 Гц, 1H, пирролидин), 3.51 – 3.36 (м., 2H, N-CH₂- + Н-пирролидин), 2.16 – 2.06 (м., 5H, N-CH₃ + -CH₂-C(O)-), 1.43 – 1.27 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 1.17 (т., J = 7.1 Гц, 3H, CH₃), 1.14 – 1.02 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 0.91 – 0.67 (м., 2H, -(CH₂)₃-).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 181.14, 174.56, 172.69, 172.53, 142.02, 132.64 (2C), 131.66, 131.58, 130.76, 129.71, 126.44 (2C), 115.25, 115.04, 113.59, 111.69, 77.14, 75.97, 59.67, 56.73, 49.97, 34.72, 33.26, 26.45, 25.00, 24.00, 14.15.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₈H₃₀BrFN₄O₄S + Na]⁺: 639.1047; найдено 639.1061.

Этиловый эфир 6-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(3-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)гексановой кислоты (91)

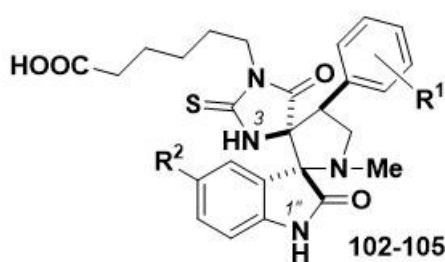
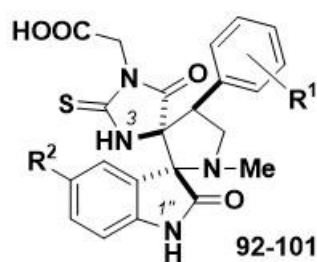
Из 0.381 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **75**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.380 г соединения **91** в виде белого порошка. Выход 60%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.72 (с., 1H, NH(1'')), 10.20 (с., 1H, NH(3)), 7.57 – 7.47 (м., 1H, аромат.), 7.47 – 7.38 (м., 2H, аромат.), 7.36 – 7.25 (м., 3H, аромат.), 6.76 (д., J = 8.2 Гц, 1H, аромат.), 4.31 – 4.12 (м., 2H, N-CH₂- + H-пирролидин), 4.03 (к., J = 7.2 Гц, 2H, O-CH₂-), 3.86 (т., J = 9.5 Гц, 1H, пирролидин), 3.53 – 3.35 (м., 2H, N-CH₂- + H-пирролидин), 2.17 – 2.06 (м., 5H, N-CH₃ + -CH₂-C(O)-), 1.44 – 1.30 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 1.17 (т., J = 7.1 Гц, 3H, CH₃), 1.14 – 1.03 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 0.93 – 0.71 (м., 2H, -(CH₂)₃-).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 181.19, 174.47, 172.68, 172.50, 142.04, 137.15, 133.04, 132.67, 130.11, 129.71, 129.46, 128.40, 127.64, 126.36, 113.61, 111.71, 77.09, 75.91, 59.67, 56.39, 50.13, 39.85, 34.71, 33.27, 26.48, 25.04, 24.02, 14.16.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₈H₃₀BrClN₄O₄S + Na]⁺: 655.0752; найдено 655.0762.

Получение карбоновых кислот монодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дионов 92-105



К суспензии карбоксиэтил-производного диспироиндолинона **78-91** в 95% этаноле (1 мл на 0.1 ммоль) добавляли 10% водный раствор KOH (1 мл на 0.1 ммоль), в

результате чего наблюдали растворение исходного вещества. Через 1 час перемешивания при комнатной температуре к раствору добавляли избыток 1M р-ра HCl до pH ~ 4-5, наблюдая выпадение белого кристаллического осадка. Реакционную смесь охлаждали до 0-5 °С, после чего полученный осадок фильтровали, промывали холодной водой (10 мл) и холодным 95% этанолом (10 мл), сушили на воздухе.

2-((2'R*,4S*,4'S*)-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусная кислота (92)

Из 0.25 г (0.5 ммоль) диспироиндолинона **78** получили 0.188 г соединения **92** в виде белого порошка. Выход 80%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.65 (с., 1H, NH(1'')), 10.26 (с., 1H, NH(3)), 7.46 – 7.33 (м., 2H, аромат.), 7.29 – 7.20 (м., 3H, аромат.), 7.05 – 6.94 (м., 2H, аромат.), 6.77 (д., *J* = 7.8 Гц, 1H, аромат.), 4.25 (т., *J* = 9.1 Гц, 1H, пирролидин), 4.12 (дд., *J* = 28.3, 17.2 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.86 (т., *J* = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.43 (т., *J* = 8.8 Гц, 1H, пирролидин), 2.07 (с., 3H, N-CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₂H₁₉ClN₄O₄S + Na]⁺: 493.0708; найдено 493.0720.

2-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусная кислота (93)

Из 0.289 г (0.5 ммоль) диспироиндолинона **79** получили 0.275 г соединения **93** в виде белого порошка. Выход 100%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.76 (с., 1H, NH(1'')), 10.27 (с., 1H, NH(3)), 7.53 – 7.48 (м., 1H, аромат.), 7.46 – 7.36 (м., 1H, аромат.), 7.05 – 6.94 (м., 1H, аромат.), 7.33 (д., *J* = 8.6 Гц, 2H), 6.75 (д., *J* = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.24 (т., *J* = 9.1 Гц, 1H, пирролидин), 4.11 (дд., *J* = 29.4, 17.3 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.87 (т., *J* = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.45 (т., *J* = 8.7 Гц, 1H, пирролидин), 2.10 (с., 3H, N-CH₃).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.51, 174.06, 172.24, 167.45, 142.07, 133.56, 132.66, 132.16, 131.48 (2C), 129.76, 128.20 (2C), 126.24, 113.54, 111.76, 77.05, 76.18, 56.02, 50.14, 41.42, 34.71.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₂H₁₈BrClN₄O₄S + Na]⁺: 570.9813; найдено 570.9821.

2-((2'R*,4S*,4'S*)-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-5''-хлордиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусная кислота (94)

Из 0.289 г (0.5 ммоль) диспироиндолинона **80** получили 0.274 г соединения **94** в виде белого порошка. Выход 100%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.79 (с., 1H, NH(1'')), 10.25 (с., 1H, NH(3)), 7.46 (д., *J* = 8.6 Гц, 2H, аромат.), 7.38 (д., *J* = 2.2 Гц, 1H, аромат.), 7.33 (д., *J* = 8.6 Гц, 1H, аромат.), 7.28 (дд., *J* = 8.3, 2.2 Гц, 1H, аромат.), 6.80 (д., *J* = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.22 (т., *J* = 9.1 Гц, 1H, пирролидин), 4.11 (дд., *J* = 25.5, 17.2 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.87 (т., *J* = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.44 (т., *J* = 8.7 Гц, 1H, пирролидин), 2.10 (с., 3H, N-CH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.59, 174.23, 172.31, 167.53, 141.72, 134.06, 131.86, 131.13, 129.83, 127.08, 125.89, 125.81, 120.84, 111.28, 77.12, 76.12, 55.98, 50.19, 41.54, 40.15, 39.94, 39.73, 39.52, 39.31, 39.10, 38.90, 34.71.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₂H₁₉ClN₄O₄S + Na]⁺: 570.9813; найдено 570.9828.

2-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусная кислота (95)

Из 0.199 г (0.4 ммоль) диспироиндолинона **81** получили 0.197 г соединения **95** в виде белого порошка. Выход 99%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.72 (с., 1H, NH(1'')), 10.25 (с., 1H, NH(3)), 7.50 (д., J = 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.46 (д., J = 8.1 Гц, 2H, аромат.), 7.41 (дд., J = 8.3, 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.33 (д., J = 8.1 Гц, 2H, аромат.), 6.74 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.23 (т., J = 9.2 Гц, 1H), 4.11 (дд., J = 29.8, 17.3 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.87 (т., J = 9.4 Гц, 1H), 3.45 (т., J = 8.6 Гц, 1H), 2.11 (с., 3H, N-CH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.51, 174.06, 172.22, 167.39, 142.03, 133.95, 132.63, 131.77 (2C), 131.08 (2C), 129.72, 126.22, 120.78, 113.50, 111.70, 77.03, 76.08, 55.93, 50.16, 41.39, 34.65.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₂H₁₈Br₂N₄O₄S + Na]⁺: 614.9308; найдено 614.9315.

2-((2'R*,4S*,4'S*)-1'-метил-4'-(4-метоксифенил)-2'',5-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусная кислота (96)

Из 0.247 г (0.5 ммоль) диспироиндолинона **82** получили 0.217 г соединения **96** в виде белого порошка. Выход 93%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.62 (с., 1H, NH(1'')), 9.78 (с., 1H, NH(3)), 7.34 (д., J = 7.6 Гц, 1H, аромат.), 7.31 (д., J = 8.8 Гц, 2H, аромат.), 7.22 (тд., J = 7.7, 1.3 Гц, 1H, аромат.), 6.97 (тд., J = 7.6, 1.1 Гц, 1H, аромат.), 6.83 (д., J = 8.8 Гц, 2H, аромат.), 6.78 (д., J = 7.7 Гц, 1H, аромат.), 4.18 (т., J = 9.1 Гц, 1H, пирролидин), 4.06 (дд., J = 43.3, 17.1 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.88 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.72 (с., 3H, OCH₃), 3.38 (т., J = 8.7 Гц, 1H, пирролидин), 2.06 (с., 3H, N-CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₃H₂₂N₄O₅S + K]⁺: 505.0942; найдено 505.0955.

2-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-4'-(4-метоксифенил)-2'',5-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусная кислота (97)

Из 0.287 г (0.5 ммоль) диспироиндолинона **83** получили 0.267 г соединения **97** в виде белого порошка. Выход 98%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.76 (с., 1H, NH(1'')), 10.05 (с., 1H, NH(3)), 7.49 (д., *J* = 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.41 (дд., *J* = 8.3, 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.29 (д., *J* = 8.7 Гц, 2H, аромат.), 6.83 (д., *J* = 8.7 Гц, 2H, аромат.), 6.74 (д., *J* = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.18 (т., *J* = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 4.10 (дд., *J* = 19.4, 17.2 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.84 (т., *J* = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.72 (с., 3H, OCH₃), 3.41 (т., *J* = 8.9 Гц, 1H, пирролидин), 2.10 (с., 3H, N-CH₃).

HRMS-ESI: *m/z* рассчитано для [C₂₃H₂₁BrN₄O₄S + 2Na - H]⁺: 589.0128; найдено 589.0143.

2-((2'R*,4S*,4'S*)-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'--(3,4-дифторфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусная кислота (98)

Из 0.25 г (0.5 ммоль) диспироиндолинона **84** получили 0.172 г соединения **98** в виде белого порошка. Выход 73%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.62 (с., 1H, NH(1'')), 10.06 (с., 1H, NH(3)), 7.61 – 7.52 (м., 1H, аромат.), 7.37 – 7.13 (м., 4H, аромат.), 6.97 (т., *J* = 7.6 Гц, 1H, аромат.), 6.77 (д., *J* = 7.7 Гц, 1H, аромат.), 4.23 (т., *J* = 9.1 Гц, 1H, пирролидин), 4.03 (дд., *J* = 23.3, 17.0 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.88 (т., *J* = 9.3 Гц, 1H, пирролидин), 3.45 (т., *J* = 8.8 Гц, 1H, пирролидин), 2.07 (с., 3H, N-CH₃).

HRMS-ESI: *m/z* рассчитано для [C₂₂H₁₈F₂N₄O₄S + Na]⁺: 495.0909; найдено 495.0921.

2-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'--(3,4-дифторфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусная кислота (99)

Из 0.289 г (0.5 ммоль) диспироиндолинона **85** получили 0.275 г соединения **99** в виде белого порошка. Выход 100%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.77 (с., 1H, NH(1'')), 10.21 (с., 1H, NH(3)), 7.63 – 7.55 (м., 1H, аромат.), 7.52 – 7.40 (м., 2H, аромат.), 7.47 – 7.31 (м., 2H, аромат.), 6.75 (д., *J* = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.26 (т., *J* = 9.1 Гц, 1H, пирролидин), 4.03 (дд., *J* = 24.6, 17.0 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.85 (т., *J* = 9.2 Гц, 1H, пирролидин), 3.46 (т., *J* = 8.8 Гц, 1H, пирролидин), 2.05 (с., 3H, N-CH₃).

HRMS-ESI: *m/z* рассчитано для [C₂₂H₁₇BrF₂N₄O₄S + 2Na - H]⁺: 594.9834; найдено 594.9847.

2-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(3-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусная кислота (100)

Из 0.289 г (0.5 ммоль) диспироиндолинона **86** получили 0.275 г соединения **100** в виде белого порошка. Выход 100%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.74 (с., 1H, NH(1'')), 10.21 (с., 1H, NH(3)), 7.55 – 7.41 (м., 4H, аромат.), 7.39 – 7.28 (м., 2H, аромат.), 6.77 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.15 (т., J = 9.3 Гц, 1H, пирролидин), 4.05 (дд., J = 25.4, 17.1 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.87 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.47 (т., J = 8.8 Гц, 1H, пирролидин), 2.10 (с., 3H, N-CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₂H₁₈BrClN₄O₄S + Na]⁺: 570.9813; найдено 570.9828.

2-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-фенилдиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)уксусная кислота (101)

Из 0.272 г (0.5 ммоль) диспироиндолинона **87** получили 0.252 г соединения **101** в виде белого порошка. Выход 98%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.70 (с., 1H, NH(1'')), 10.02 (с., 1H, NH(3)), 7.58 – 7.53 (м., 1H, аромат.), 7.49 – 7.34 (м., 3H, аромат.), 7.33 – 7.18 (м., 3H, аромат.), 6.75 (д., J = 8.2 Гц, 1H, аромат.), 4.20 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 4.09 (дд., J = 27.4, 17.2 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.89 (т., J = 9.3 Гц, 1H, пирролидин), 3.46 (т., J = 8.8 Гц, 1H, пирролидин), 2.11 (с., 3H, N-CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₂H₁₉BrN₄O₄S + Na]⁺: 537.0208; найдено 537.0223.

6-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)гексановая кислота (102)

Из 0.254 г (0.4 ммоль) диспироиндолинона **88** получили 0.237 г соединения **102** в виде белого порошка. Выход 98%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.96 (с., 1H, NH(1'')), 9.14 (с., 1H, NH(3)), 7.56 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 7.49 (д., J = 2.1 Гц, 1H, аромат.), 7.44 – 7.27 (м., 4H, аромат.), 6.77 (дд., J = 23.0, 8.2 Гц, 1H, аромат.), 4.23 – 4.11 (м., 2H, N-CH₂- + H-пирролидин), 3.95 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.88 – 3.80 (м., 1H, N-CH₂-), 3.53 – 3.45 (м., 1H, пирролидин), 2.11 (с., 3H, N-CH₃), 1.99 (т., J = 7.4 Гц, 2H, -CH₂-C(O)-), 1.36 – 1.26 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 1.19 – 1.08 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 0.93 – 0.68 (м., 2H, -(CH₂)₃-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{26}H_{26}BrClN_4O_4S + Na]^+$: 627.0439; найдено 627.0455.

6-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)гексаноая кислота (103)

Из 0.271 г (0.4 ммоль) диспироиндолинона **89** получили 0.216 г соединения **103** в виде белого порошка. Выход 83%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.00 (с., 1H, COOH), 10.74 (с., 1H, NH(1'')), 10.10 (с., 1H, NH(3)), 7.52 – 7.38 (м., 4H, аромат.), 7.37 – 7.27 (м., 2H, аромат.), 6.76 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.26 – 4.00 (м., 2H, N-CH₂- + H-пирролидин), 3.86 (т., J = 9.5 Гц, 1H, пирролидин), 3.52 – 3.36 (м., 2H, N-CH₂- + H-пирролидин), 2.12 (с., 3H, N-CH₃), 2.06 (т., J = 7.3 Гц, 2H, -CH₂-C(O)-), 1.40 – 1.26 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 1.21 – 1.06 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 0.90 – 0.71 (м., 2H, -(CH₂)₃-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{26}H_{26}Br_2N_4O_4S + Na]^+$: 670.9934; найдено 670.9949.

6-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(4-фторфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)гексановая кислота (104)

Из 0.247 г (0.4 ммоль) диспироиндолинона **90** получили 0.235 г соединения **104** в виде белого порошка. Выход 100%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.75 (с., 1H, NH(1'')), 10.05 (с., 1H, NH(3)), 7.54 – 7.48 (м., 1H, аромат.), 7.46 – 7.35 (м., 3H, аромат.), 7.12 (т., J = 8.9 Гц, 2H, аромат.), 6.77 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.27 – 4.00 (м., 2H, N-CH₂- + H-пирролидин), 3.89 – 3.80 (м., 2H, N-CH₂- + H-пирролидин), 3.51 – 3.39 (м., 1H, пирролидин), 2.12 (с., 3H, N-CH₃), 2.05 (т., J = 7.5 Гц, 2H, -CH₂-C(O)-), 1.41 – 1.25 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 1.14 – 1.04 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 0.88 – 0.73 (м., 2H, -(CH₂)₃-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{26}H_{26}BrFN_4O_4S + Na]^+$: 611.0734; найдено 611.0751.

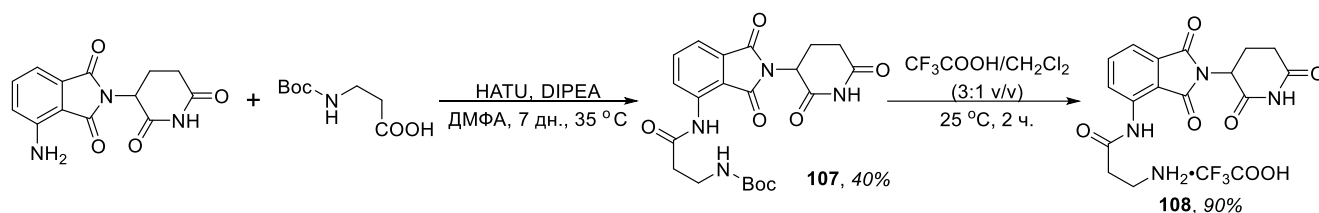
6-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(3-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)гексановая кислота (105)

Из 0.254 г (0.4 ммоль) диспироиндолинона **91** получили 0.23 г соединения **105** в виде белого порошка. Выход 95%.

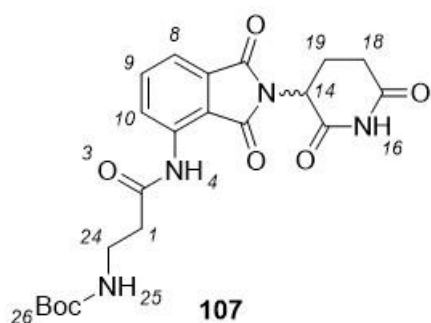
^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.03 (с., 1H, COOH), 10.74 (с., 1H, NH(1'')), 10.20 (с., 1H, NH(3)), 7.51 – 7.48 (м., 1H, аромат.), 7.46 – 7.39 (м., 2H, аромат.), 7.38 – 7.25 (м., 3H, аромат.), 6.77 (д., $J = 8.4$ Гц, 1H, аромат.), 4.20 (т., $J = 9.3$ Гц, 1H, пирролидин), 3.86 (т., $J = 9.3$ Гц, 1H, пирролидин), 3.51 – 3.39 (м., 3H, N-CH₂- + H-пирролидин), 2.12 (с., 3H, N-CH₃), 2.06 (т., $J = 7.5$ Гц, 2H, -CH₂-C(O)-), 1.36 – 1.31 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 1.14 – 1.06 (м., 2H, -(CH₂)₃-), 0.95 – 0.67 (м., 2H, -(CH₂)₃-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₆H₂₆BrClN₄O₄S + Na]⁺: 627.0439; найдено 627.0451.

Получение конъюгата помалидомида и N-Вос- β -аланина 108:



Трет-бутил 3-((2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)амино)-3-оксопропил)карбамат (107)

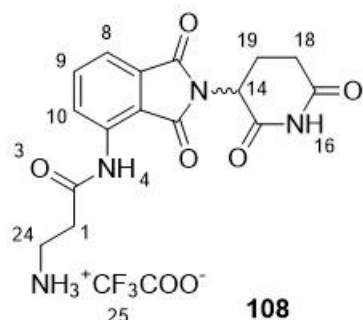


1.42 г 3-((трет-бутоксикарбонил)амино)пропановой кислоты (7.5 ммоль, 1.5 экв.) растворяли в 10 мл безводного ДМФА, после чего добавляли 3.8 г (10 ммоль, 2 экв.) гексафторфосфата азабензотриазол тетраметилурония (HATU) и 1.94 г (15 ммоль, 3 экв., 2.61 мл) диизопропилэтиламина (DIPEA), перемешивали в течение 30 минут (контроль по ТСХ). Далее добавляли 1.366 г помалидомида (5 ммоль, 1 экв.) и перемешивали в течение 7 суток при комнатной температуре. После добавляли 50 мл холодной воды, экстрагировали этилацетатом (3*75 мл), органическую фазу объединяли, промывали насыщенным водным раствором NaCl, водой и сушили над Na₂SO₄. Растворитель упаривали, твёрдый остаток очищали колоночной хроматографией (элюент — градиентная система CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1 → 20:1) с получением 0.89 г соединения **107** в виде желтоватого порошка. Выход 40%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 11.15 (с., 1H, NH(16)), 9.73 (с., 1H, NH(4)), 8.45 (д., $J = 8.3$ Гц, 1H, H(10)), 7.82 (т., $J = 7.9$ Гц, 1H, H(9)), 7.61 (д., $J = 7.3$ Гц, 1H, аромат., H(8)), 7.45 (т., $J = 7.1$ Гц, 1H, NH(25)), 5.14 (дд., $J = 12.8, 5.4$ Гц, 1H, CH(14)), 3.24 (к., $J = 6.7$ Гц, 2H, CH₂(24)), 2.96 – 2.80 (м., 2H, CH₂(19)), 2.63 – 2.51 (м., 2H, CH₂(18)), 2.11 – 1.95 (м., 2H, CH₂(1)), 1.34 (с., 9H, C(CH₃)₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₁H₂₄N₄O₇ + Na]⁺: 467.1543; найдено 467.1552.

Трифторацетат 3-амино-N-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)пропанамида (108)

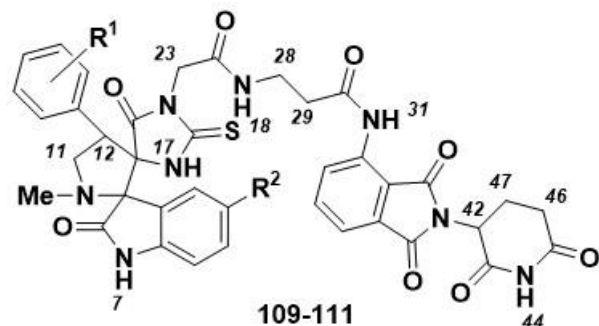


0.444 г соединения **107** (1 ммоль, 1 экв.) растворяли в 12 мл смеси трифторуксусная кислота:дихлорметан (1:3 по объёму), перемешивали при комнатной температуре в течение 2 ч. После растворитель упаривали на роторе, получая 0.435 г соединения **108** в виде жёлтого порошка, которое использовали без дополнительной очистки. Выход 95%.

¹H ЯМР (ДМСО-*d*₆, 400 МГц, δ , м.д.): 11.17 (с., 1H, NH(16)), 9.99 (с., 1H, NH(4)), 8.52 (дд., $J = 8.4, 1.4$ Гц, 1H, аромат.), 7.88 – 7.82 (м., 1H, аромат.), 7.78 (с., 3H, NH₃(25)), 7.66 (д., $J = 7.3$ Гц, 1H, аромат.), 5.20 – 5.11 (м., 1H, CH(14)), 3.18 – 3.05 (м., 2H, CH₂(24)), 3.04 – 2.95 (м., 2H, CH₂(19)), 2.66 – 2.52 (м., 2H, CH₂(18)), 2.10 – 1.98 (м., 2H, CH₂(1)).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₈H₁₇F₃N₄O₇ + Na – CF₃COOH]⁺: 367.1018; найдено 367.1025.

Общая методика получения конъюгатов диспироиндолинона с глутаримидом структурного типа V 109-111



Соответствующий диспироиндолинон **92-105** (1 экв.), НАТУ (2 экв.) и соединение **108** (1 экв.) растворяли в ДМФА (2.5 мл на 0.1 ммоль), после чего при перемешивании добавляли DIPEA (3 экв.), продували аргоном и перемешивали в течение 24 ч. при комнатной температуре. После добавляли 25 мл холодной воды, экстрагировали этилацетатом (3*30 мл), органическую фазу объединяли, промывали 0.1 М HCl, насыщенным водным раствором NaCl, водой и сушили над Na₂SO₄. Растворитель упаривали, твёрдый остаток очищали колоночной хроматографией (элюент — градиентная система CH₂Cl₂/CH₃OH 99:1 → 20:1), получая целевой продукт в виде порошка.

3-(2-((2'*R,4*S**,4'*S**)-5''-бром-1'-метил-4'-(4-метоксифенил)-2'',5-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)ацетамидо)-N-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)пропанамида (109)**

Из 110 мг диспироиндолинона **97** (0.2 ммоль, 1 экв.), 152 мг HATU (0.4 ммоль, 2 экв.), 92 мг соединения **108** (0.2 ммоль, 1 экв.) и 78 мг DIPEA (0.6 ммоль, 3 экв., 105 мкл) получили 52 мг соединения **109** в виде бежевого порошка. Выход 30%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 600 МГц, δ, м.д.): 11.15 (с., 1H, NH(44)), 10.75 (с., 1H, NH(7)), 9.78 (с., 1H, NH(17)), 9.76 (с., 1H, NH(31)), 8.43 (д., *J* = 8.4 Гц, 1H, аромат.), 8.09 (т., *J* = 5.6 Гц, 1H, NH(18)), 7.82 (тд., *J* = 7.8, 2.3 Гц, 1H, аромат.), 7.62 (д., *J* = 7.3 Гц, 1H, аромат.), 7.45 (д., *J* = 2.2 Гц, 1H, аромат.), 7.42 (дд., *J* = 8.2, 2.1 Гц, 1H, аромат.), 7.37 – 7.31 (м., 2H, аромат.), 6.85 (д., *J* = 8.8 Гц, 2H, аромат.), 6.76 (д., *J* = 8.2 Гц, 1H, аромат.), 5.15 (дд., *J* = 12.8, 5.5 Гц, 1H, CH(42)), 4.17 – 4.03 (м., 2H, CH(23) + CH(12)), 3.96 – 3.90 (м., 1H, CH(23)), 3.86 (т., *J* = 9.4 Гц, 1H, CH(11)), 3.72 (с., 3H, OCH₃), 3.42 – 3.30 (м., 3H, H(11') + CH₂(28)), 2.93 – 2.86 (м., 2H, CH₂(29)), 2.64 – 2.57 (м., 2H, CH₂(47)), 2.09 (с., 3H, NCH₃), 2.08 – 2.07 (м., 2H, CH₂(46)).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 151 МГц, δ, м.д.): 181.02, 174.33, 172.78, 170.24, 169.82, 167.49, 166.70, 164.77, 158.50, 142.29, 136.30, 136.06, 132.60, 131.50, 130.70 (2C), 129.60, 126.75, 126.52 (2C), 118.53, 117.42, 113.69, 113.44, 111.73, 76.95, 76.05, 56.37, 54.96, 50.06, 48.92, 42.24, 36.41, 34.94, 34.70, 30.98, 22.01.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₃₉H₃₅BrN₈O₉S + Na]⁺: 893.1323; найдено 893.1314.

3-(2-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)ацетамидо)-N-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)пропанамид (110)

Из 110 мг диспироиндолинона **93** (0.2 ммоль, 1 экв.), 152 мг HATU (0.4 ммоль, 2 экв.), 92 мг соединения **108** (0.2 ммоль, 1 экв.) и 78 мг DIPEA (0.6 ммоль, 3 экв., 105 мкл) получили 70 мг соединения **110** в виде бежевого порошка. Выход 40%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 600 МГц, δ, м.д.): 11.15 (с., 1H, NH(44)), 10.75 (с., 1H, NH(7)), 10.00 (с., 1H, NH(17)), 9.78 (с., 1H, NH(31)), 8.44 (д., *J* = 8.4 Гц, 1H, аромат.), 8.12 (т., *J* = 5.6 Гц, 1H, NH(18)), 7.82 (т., *J* = 7.9 Гц, 1H, аромат.), 7.62 (д., *J* = 7.2 Гц, 1H, аромат.), 7.46 – 7.40 (м., 4H, аромат.), 7.36 – 7.32 (м., 2H, аромат.), 6.75 (д., *J* = 8.2 Гц, 1H, аромат.), 5.14 (дд., *J* = 12.9, 5.5 Гц, 1H, CH(42)), 4.22 – 4.07 (м., 2H, CH(23) + CH(12)), 3.96 – 3.87 (м., 1H, CH(23) + CH(11)), 3.47 – 3.40 (м., 2H, H(11') + CH₂(28)), 3.22 (к., *J* = 6.5 Гц, 1H, CH₂(28')), 2.91 – 2.85 (м., 2H, CH₂(29)), 2.64 – 2.57 (м., 2H, CH₂(47)), 2.09 (с., 3H, NCH₃), 2.08 – 2.02 (м., 2H, CH₂(46)).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 151 МГц, δ, м.д.): 181.20, 174.21, 172.91, 172.77, 170.30, 169.80, 167.49, 166.69, 164.77, 164.57, 142.35, 136.31, 136.05, 133.84, 132.71, 132.08, 131.50 (2C), 129.57,

128.21 (2C), 126.74, 126.30, 118.52, 117.39, 113.48, 111.74, 76.79, 75.95, 55.85, 48.97, 42.24, 36.44, 34.95, 34.67, 30.97, 22.01.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{38}H_{32}BrClN_8O_8S + Na]^+$: 897.0828; найдено 897.0818.

3-(2-((2'R*,4S*,4'S*)-1'-метил-2'',5-диоксо-2-тиоксо-4')-(3,4-дифторфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)ацетамидо)-N-(2-(2,6-диоксопиперидин-3-ил)-1,3-диоксоизоиндолин-4-ил)пропанами́д (111)

Из 94 мг диспироиндолинона **98** (0.2 ммоль, 1 экв.), 152 мг HATU (0.4 ммоль, 2 экв.), 92 мг соединения **108** (0.2 ммоль, 1 экв.) и 78 мг DIPEA (0.6 ммоль, 3 экв., 105 мкл) получили 53 мг соединения **111** в виде бежевого порошка. Выход 33%.

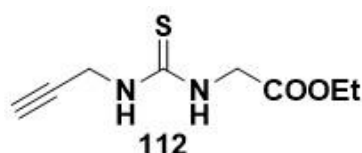
¹H ЯМР (DMCO-d₆, 600 МГц, δ, м.д.): 11.15 (с., 1H, NH(44)), 10.63 (с., 1H, NH(7)), 9.90 (с., 1H, NH(17)), 9.79 (с., 1H, NH(31)), 8.43 (дт., $J = 8.4, 1.1$ Гц, 1H), 8.15 (т., $J = 5.6$ Гц, 1H, NH(18)), 7.82 (т., $J = 7.8$ Гц, 1H, аромат.), 7.65 – 7.55 (м., 2H, аромат.), 7.41 – 7.16 (м., 4H, аромат.), 7.00 – 6.91 (м., 1H, аромат.), 6.79 (д., $J = 7.7$ Гц, 1H, аромат.), 5.15 (дд., $J = 12.9, 5.4$ Гц, 1H, CH(42)), 4.24 – 4.09 (м., 2H, CH(23) + CH(12)), 3.95 – 3.81 (м., 1H, CH(23) + CH(11)), 3.48 – 3.34 (м., 2H, H(11') + CH₂(28)), 3.23 (к., $J = 6.5$ Гц, 1H, CH₂(28')), 2.97 – 2.83 (м., 2H, CH₂(29)), 2.65 – 2.51 (м., 2H, CH₂(47)), 2.09 – 2.01 (м., 5H, N-CH₃ + CH₂(46)).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 151 МГц, δ, м.д.): 181.50, 174.84, 173.32, 172.71, 170.19, 169.75, 167.47, 166.65, 164.86, 150.18 (дд., $J_{CF} = 36.4, 12.7$ Гц), 147.75 (дд., $J_{CF} = 37.1, 12.5$ Гц), 143.21, 136.29, 136.00, 132.86, 131.46, 130.02, 126.74, 123.70, 121.68, 118.84 (д., $J_{CF} = 17.6$ Гц), 118.47, 117.38 (д., $J_{CF} = 2.2$ Гц), 116.94 (д., $J_{CF} = 16.6$ Гц), 109.81, 76.46, 75.81, 56.22, 49.42, 48.92, 42.28, 36.55, 34.95, 34.49, 30.93, 21.97.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{38}H_{32}F_2N_8O_9S + Na]^+$: 821.1924; найдено 821.1919.

4.2.6. Синтез конъюгатов диспироиндолинонов с глутаримидом типов VI и VII

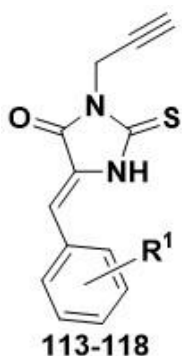
Этиловый эфир (проп-2-ин-1-илкарбамотиоил)глицина 112



2.76 г пропаргиламина (0.05 моль, 1 экв., 3.2 мл) растворяли в 100 мл диэтилового эфира, после чего при интенсивном перемешивании в течение 15 минут прикапывают 7.6 г изотиоцианатоэтилацетата (0.0525 ммоль, 1.05 экв., 7.64 мл), далее реакцию перемешивали в течение 3 ч. при комнатной температуре (контроль по ТСХ). После окончания реакции упаривали растворитель, получая 10 г целевого продукта **112**.

Полученное вещество использовали далее без дополнительной очистки. Выход количественный.

Получение N(3)-пропаргил 2-тиогидантоинов 113-118



Соединение **112** (1 экв.) растворяли в 95% этаноле (15 мл/1 ммоль), после чего добавляли соответствующий бензальдегид (1.1 экв.) и твёрдый гидроксид калия (1 экв.), в результате образовывался раствор бордового цвета. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч. при комнатной температуре (контроль по ТСХ), после чего добавляли 1М р-р HCl до pH ~4-5 и разбавляли избытком холодной воды, наблюдая выпадение осадка жёлтого цвета. Осадок отделяли фильтрованием, после чего твёрдый остаток на фильтре промывали 1М р-ром HCl, холодной водой, 95% этанолом и небольшим количеством холодного диэтилового эфира, сушили на воздухе с получением целевого продукта.

(Z)-3-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксо-5-(4-хлорбензилиден)имидазолидин-4-он (**113**)

Из 1 г соединения **112** (5 ммоль, 1 экв.), 0.773 г 4-хлорбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г KOH (5 ммоль, 1 экв.) получили 1.175 г соединения **113** в виде ярко-жёлтого вещества. Выход 85%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.61 (с., 1H, NH), 7.80 (д., J = 8.6 Гц, 2H, аромат.), 7.50 (д., J = 8.6 Гц, 2H, аромат.), 6.69 (с., 1H, -C=CH-), 4.58 (д., J = 2.5 Гц, 2H, -CH₂-), 3.27 (т., J = 2.5 Гц, 1H, -C≡CH).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₃H₉ClN₂OS + 2Na – H]⁺: 320.9841; найдено 320.9845.

(Z)-5-(4-бромбензилиден)-3-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксоимидазолидин-4-он (**114**)

Из 1 г соединения **112** (5 ммоль, 1 экв.), 1.018 г 4-бромбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г KOH (5 ммоль, 1 экв.) получили 1.152 г соединения **114** в виде ярко-жёлтого вещества. Выход 72%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.60 (с., 1H, NH), 7.72 (д., J = 8.6 Гц, 2H, аромат.), 7.63 (д., J = 8.6 Гц, 2H, аромат.), 6.66 (с., 1H, -C=CH-), 4.57 (д., J = 2.5 Гц, 2H, -CH₂-), 3.27 (т., J = 2.5 Гц, 1H, -C≡CH).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₃H₉BrN₂OS + 2Na – H]⁺: 364.9331; найдено 364.9334.

(Z)-5-(4-метоксибензилиден)-3-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксоимидазолидин-4-он (**115**)

Из 1 г соединения **112** (5 ммоль, 1 экв.), 1.018 г 4-бромбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г КОН (5 ммоль, 1 экв.) получили 1.152 г соединения **115** в виде ярко-жёлтого вещества. Выход 72%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.60 (с., 1H, NH), 7.72 (д., $J = 8.6$ Гц, 2H, аромат.), 7.63 (д., $J = 8.6$ Гц, 2H, аромат.), 6.66 (с., 1H, $-\text{C}=\text{CH}-$), 4.57 (д., $J = 2.5$ Гц, 2H, $-\text{CH}_2-$), 3.27 (т., $J = 2.5$ Гц, 1H, $-\text{C}\equiv\text{CH}$).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 176.80, 163.12, 160.61, 132.51 (2C), 124.65, 123.91 (2C), 114.47, 77.83, 74.02, 55.44, 30.06, 29.05.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{14}\text{H}_{11}\text{N}_2\text{O}_2\text{S} + \text{H}]^+$: 273.0692; найдено 273.0694.

(Z)-5-(4-нитробензилиден)-3-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксоимидазолидин-4-он (116)

Из 1 г соединения **112** (5 ммоль, 1 экв.), 0.831 г 4-метоксибензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г КОН (5 ммоль, 1 экв.) получили 0.905 г соединения **116** в виде ярко-жёлтого вещества. Выход 63%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.82 (с., 1H, NH), 8.23 (д., $J = 8.7$ Гц, 2H, аромат.), 8.00 (д., $J = 8.7$ Гц, 2H, аромат.), 6.76 (с., 1H, $-\text{C}=\text{CH}-$), 4.60 – 4.54 (м., 2H, $-\text{CH}_2-$), 3.32 – 3.28 (м., 1H, $-\text{C}\equiv\text{CH}$).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 176.34, 161.48, 146.94, 131.24 (2C), 128.52, 123.72 (2C), 110.13, 77.43, 74.49, 48.47, 30.22.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{13}\text{H}_9\text{N}_3\text{O}_3\text{S} + \text{Na}]^+$: 310.0262; найдено 310.0268.

(Z)-3-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксо-5-(4-фторбензилиден)имидазолидин-4-он (117)

Из 1 г соединения **112** (5 ммоль, 1 экв.), 0.683 г 4-фторбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г КОН (5 ммоль, 1 экв.) получили 0.78 г соединения **117** в виде ярко-жёлтого вещества. Выход 60%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.57 (с., 1H, NH), 7.90 – 7.80 (м., 2H, аромат.), 7.38 – 7.16 (м., 2H, аромат.), 6.70 (с., 1H, $-\text{C}=\text{CH}-$), 4.57 (д., $J = 2.5$ Гц, 2H, $-\text{CH}_2-$), 3.26 (т., $J = 2.5$ Гц, 1H, $-\text{C}\equiv\text{CH}$).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 177.46, 163.05, 132.82 (д., $J_{\text{CF}} = 8.6$ Гц, 2C), 128.72 (д., $J_{\text{CF}} = 3.2$ Гц), 115.89 (д., $J_{\text{CF}} = 21.7$ Гц, 2C), 112.52, 77.70, 74.09, 30.08.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{13}\text{H}_9\text{FN}_2\text{OS} + \text{H}]^+$: 261.0492; найдено 261.0496.

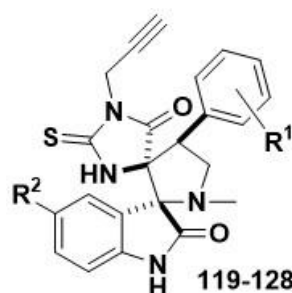
(Z)-3-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксо-5-(3-хлорбензилиден)имидазолидин-4-он (118)

Из 1 г соединения **112** (5 ммоль, 1 экв.), 0.773 г 3-хлорбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.28 г КОН (5 ммоль, 1 экв.) получили 0.775 г соединения **118** в виде ярко-жёлтого вещества. Выход 56%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.71 (с., 1H, NH), 7.89 – 7.84 (м., 1H, аромат.), 7.73 – 7.66 (м., 1H, аромат.), 7.44 – 7.40 (м., 3H, аромат.), 6.65 (с., 1H, -C=CH-), 4.57 (д., $J = 2.5$ Гц, 2H, -CH₂-), 3.27 (т., $J = 2.5$ Гц, 1H, -C≡CH).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 177.75, 163.00, 134.16, 133.72, 130.51, 129.30, 129.18, 126.84, 111.63, 77.63, 74.20, 30.13.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₃H₉ClN₂OS–H][–]: 275.0040; найдено 275.0053.

Получение N(1)-пропаргил диспироиндолинонов 119-128**(2'R*,4S*,4'S*)-1'-метил-1-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (119)**

По общей методике получения диспироиндолинонов (стр. 134) из 0.277 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **113**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.294 г (2 ммоль, 2 экв.) изатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.185 г соединения **119** в виде белого порошка. Выход 41%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.56 (с., 1H, NH(1'')), 10.26 (с., 1H, NH(3)), 7.46 – 7.29 (м., 5H, аромат.), 7.23 (т., $J = 7.7$ Гц, 1H, аромат.), 6.98 (т., $J = 7.6$ Гц, 1H, аромат.), 6.77 (д., $J = 7.7$ Гц, 1H, аромат.), 4.25 (т., $J = 9.1$ Гц, 1H, пирролидин), 4.18 (дд., $J = 5.9, 2.5$ Гц, 2H, N-CH₂-), 3.88 (т., $J = 9.4$ Гц, 1H, пирролидин), 3.42 (т., $J = 8.8$ Гц, 1H, пирролидин), 2.99 (т., $J = 2.5$ Гц, 1H, -C≡CH), 2.07 (с., 3H, N-CH₃).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 179.02, 174.57, 142.59, 133.77, 132.19, 131.32 (2C), 129.84, 128.30 (2C), 127.18, 123.64, 121.73, 109.79, 77.14, 76.98, 73.63, 56.02, 50.20, 34.62, 29.77.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{23}H_{19}ClN_4O_2S + Na]^+$: 473.0809; найдено 473.0823.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-1-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (120)

Из 0.277 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **113**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.281 г соединения **120** в виде белого порошка. Выход 53%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.71 (с., 1H, NH(1'')), 10.41 (с., 1H, NH(3)), 7.56 – 7.51 (м., 1H, аромат.), 7.45 – 7.37 (м., 1H, аромат.), 7.36 – 7.31 (м., 4H, аромат.), 6.74 (д., J = 8.5 Гц, 1H, аромат.), 4.29 – 4.20 (м., 3H, N-CH₂- + H-пирролидин), 3.86 (т., J = 9.5 Гц, 1H, пирролидин), 3.44 (т., J = 8.8 Гц, 1H, пирролидин), 2.98 (т., J = 2.5 Гц, 1H, -C≡CH), 2.11 (с., 3H, N-CH₃).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 179.48, 174.10, 171.42, 141.81, 133.45, 132.67, 132.27, 131.30 (2C), 129.78, 128.30 (2C), 126.15, 113.73, 111.75, 77.13, 76.86, 76.13, 73.52, 55.91, 50.12, 34.71, 29.81.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{23}H_{18}BrClN_4O_2S + Na]^+$: 550.9915; найдено 550.9914.

(2'R*,4S*,4'S*)-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-1-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (121)

Из 0.321 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **114**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.294 г (2 ммоль, 2 экв.) изатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.183 г соединения **121** в виде белого порошка. Выход 37%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.58 (с., 1H, NH(1'')), 10.22 (с., 1H, NH(3)), 7.48 (д., J = 8.4 Гц, 2H, аромат.), 7.39 (д., J = 7.5 Гц, 1H, аромат.), 7.28 (д., J = 8.4 Гц, 2H, аромат.), 7.23 (т., J = 7.7 Гц, 1H, аромат.), 6.99 (т., J = 7.6 Гц, 1H, аромат.), 6.77 (д., J = 7.7 Гц, 1H, аромат.), 4.24 (т., J = 9.2 Гц, 1H, пирролидин), 4.19 (дд., J = 4.8, 2.5 Гц, 2H, N-CH₂-), 3.88 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.42 (т., J = 8.7 Гц, 1H, пирролидин), 3.00 (т., J = 2.5 Гц, 1H, -C≡CH), 2.08 (с., 3H, N-CH₃).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 179.57, 174.56, 171.70, 142.60, 134.17, 131.66 (2C), 131.25 (2C), 129.88, 127.19, 123.60, 121.77, 120.87, 109.82, 77.11, 77.00, 76.00, 73.68, 55.95, 50.22, 34.63, 29.81.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{23}H_{19}BrN_4O_2S + Na]^+$: 517.0310; найдено 517.0318.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-1-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (122)

Из 0.321 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **114**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.287 г соединения **122** в виде белого порошка. Выход 50%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.71 (с., 1H, NH(1'')), 10.41 (с., 1H, NH(3)), 7.53 (д., J = 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.48 (д., J = 8.4 Гц, 2H, аромат.), 7.42 (дд., J = 8.3, 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.27 (д., J = 8.4 Гц, 2H, аромат.), 6.74 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.27 – 4.18 (м., 3H, N-CH₂- + H-пирролидин), 3.85 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.48 – 3.41 (м., 1H, пирролидин), 2.98 (т., J = 2.4 Гц, 1H, -C≡CH), 2.11 (с., 3H, N-CH₃).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 179.51, 174.11, 171.48, 141.83, 133.90, 132.69, 131.66 (2C), 131.23 (2C), 129.78, 126.14, 120.92, 113.75, 111.76, 77.14, 76.88, 76.09, 73.54, 55.89, 50.14, 34.71, 29.83.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₃H₁₈Br₂N₄O₂S + Na]⁺: 594.9409; найдено 594.9416.

(2'R*,4S*,4'S*)-1'-метил-4'-(4-метоксифенил)-1-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (123)

Из 0.272 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **115**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.294 г (2 ммоль, 2 экв.) изатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.116 г соединения **123** в виде белого порошка. Выход 26%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.55 (с., 1H, NH(1'')), 10.03 (с., 1H, NH(3)), 7.40 (д., J = 7.5 Гц, 1H, аромат.), 7.28 – 7.20 (м., 3H, аромат.), 6.99 (тд., J = 7.6, 1.0 Гц, 1H, аромат.), 6.84 (д., J = 8.7 Гц, 2H, аромат.), 6.77 (д., J = 7.7 Гц, 1H, аромат.), 4.26 – 4.10 (м., 3H, N-CH₂- + H-пирролидин), 3.86 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.71 (с., 3H, OCH₃), 3.38 (т., J = 8.9 Гц, 1H, пирролидин), 2.99 (т., J = 2.5 Гц, 1H, -C≡CH), 2.08 (с., 3H, N-CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₄H₂₁N₄O₃S + Na]⁺: 469.1310; найдено 469.1319.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-4'-(4-метоксифенил)-1-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (124)

Из 0.272 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **115**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.268 г соединения **124** в виде белого порошка. Выход 51%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.69 (с., 1H, NH(1'')), 10.24 (с., 1H, NH(3)), 7.54 (д., *J* = 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.42 (дд., *J* = 8.3, 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.27 – 7.21 (м., 2H, аромат.), 6.86 – 6.80 (м., 2H, аромат.), 6.74 (д., *J* = 8.2 Гц, 1H, аромат.), 4.23 – 4.14 (м., 3H, N-CH₂- + Н-пирролидин), 3.88 – 3.78 (м., 1H, пирролидин), 3.71 (с., 3H, OCH₃), 3.49 – 3.37 (м., 1H, пирролидин), 2.97 (т., *J* = 2.4 Гц, 1H, -C≡CH), 2.11 (с., 3H, N-CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₄H₂₁BrN₄O₃S + Na]⁺: 547.0410; найдено 547.0411.

(2'R*,4S*,4'S*)-1'-метил-4'-(4-нитрофенил)-1-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (125)

Из 0.287 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **116**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.294 г (2 ммоль, 2 экв.) изатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.045 г соединения **125** в виде белого порошка. Выход 9%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.61 (с., 1H, NH(1'')), 10.37 (с., 1H, NH(3)), 8.15 (д., *J* = 8.4 Гц, 2H, аромат.), 7.62 (д., *J* = 8.4 Гц, 2H, аромат.), 7.40 (д., *J* = 7.8 Гц, 1H, аромат.), 7.24 (т., *J* = 7.3 Гц, 1H, аромат.), 7.00 (т., *J* = 7.5 Гц, 1H, аромат.), 6.78 (д., *J* = 7.8 Гц, 1H, аромат.), 4.46 – 4.35 (м., 1H, пирролидин), 4.26 – 4.07 (м., 2H, N-CH₂-), 3.97 (т., *J* = 10.0 Гц, 1H, пирролидин), 3.48 (т., *J* = 8.7 Гц, 1H, пирролидин), 3.04 – 2.98 (м., 1H, -C≡CH), 2.10 (с., 3H, N-CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₃H₁₉N₅O₄S + Na]⁺: 484.1050; найдено 484.1056.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-4'-(4-нитрофенил)-1-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (126)

Из 0.287 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **116**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.046 г соединения **126** в виде белого порошка. Выход 8%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.65 (с., 1H, NH(1'')), 10.53 (с., 1H, NH(3)), 7.25 – 7.23 (м., 2H, аромат.), 7.22 – 7.19 (м., 2H, аромат.), 7.17 (дд., *J* = 6.3, 2.2 Гц, 1H, аромат.), 6.64 – 6.62 (м., 1H, аромат.), 6.62 – 6.60 (м., 1H, аромат.), 4.46 – 4.36 (м., 1H, пирролидин), 4.26 – 4.21 (м., 2H, N-CH₂-), 3.51 – 3.43 (м., 1H, пирролидин), 3.34 – 3.22 (м., 1H, пирролидин), 2.98 (т., *J* = 2.4 Гц, 1H, -C≡CH), 2.04 (с., 3H, N-CH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₃H₁₈BrN₅O₄S + Na]⁺: 577.9900; найдено 577.9909.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-1-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксо-4'-(4-фторфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (127)

Из 0.26 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **117**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.282 г соединения **127** в виде белого порошка. Выход 55%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.70 (с., 1H, NH(1'')), 10.40 (с., 1H, NH(3)), 7.56 (д., J = 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.42 (дд., J = 8.3, 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.40 – 7.32 (м., 2H, аромат.), 7.10 (т., J = 8.9 Гц, 2H, аромат.), 6.74 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.26 (т., J = 9.2 Гц, 1H, пирролидин), 4.23 – 4.18 (м., 2H, N-CH₂-), 3.84 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.45 (т., J = 8.8 Гц, 1H, пирролидин), 2.97 (т., J = 2.4 Гц, 1H, -C≡CH), 2.11 (с., 3H, N-CH₃).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 179.39, 174.12, 171.31, 141.74, 132.62 (2C), 131.47, 131.39 (2C), 129.80, 126.23, 115.21, 115.00, 113.70, 111.74, 77.14, 76.86, 76.18, 73.48, 56.10, 50.17, 34.72, 29.76.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₃H₁₈BrFN₄O₂S + Na]⁺: 535.0210; найдено 535.0214.

(2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-1-(проп-2-ин-1-ил)-2-тиоксо-4'-(3-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (128)*

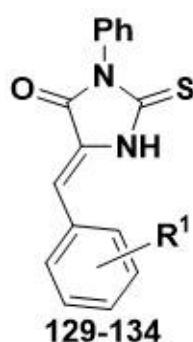
Из 0.277 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **118**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — ПЭ/ЭА 2:1) получили 0.238 г соединения **128** в виде белого порошка. Выход 45%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.71 (с., 1H, NH(1'')), 10.49 (с., 1H, NH(3)), 7.53 (д., J = 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.46 – 7.39 (м., 2H, аромат.), 7.34 – 7.29 (м., 2H, аромат.), 7.28 – 7.22 (м., 1H, аромат.), 6.75 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.31 – 4.16 (м., 3H, N-CH₂- + H-пирролидин), 3.86 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.44 (т., J = 8.8 Гц, 1H, пирролидин), 2.94 (т., J = 2.4 Гц, 1H, -C≡CH), 2.11 (с., 3H, N-CH₃).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 179.54, 174.08, 171.43, 141.83, 136.94, 133.06, 132.68, 130.05, 129.78, 129.35, 128.27, 127.65, 126.12, 113.74, 111.76, 77.10, 76.87, 76.11, 73.46, 55.94, 50.24, 34.70, 29.80.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₃H₁₈BrClN₄O₂S + Na]⁺: 550.9915; найдено 550.9915.

Получение N(3)-фенил 2-тиогидантоинов **129-134**



Фенилизотиоцианат (1 экв.), глицин (1.1 экв.) и соответствующий бензальдегид (1.1 экв.) растворяли в ледяной уксусной кислоте (10 мл/1 ммоль PhNCS), после чего реакцию смесь перемешивали при кипячении в течение 3 ч. (контроль по ТСХ). По окончании реакции раствор охлаждали до

комнатной температуры и разбавляли трёхкратным объёмом холодной воды, наблюдая образование осадка жёлтого цвета, который фильтровали, промывали водой и сушили на воздухе. Полученный продукт перекристаллизовали из 95% этанола или ледяной уксусной кислоты, либо очищали колоночной хроматографией (элюент — ПЭ/ЭА 5:1).

(Z)-2-тиоксо-3-фенил-5-(4-хлорбензилиден)имидазолидин-4-он 129 [241]

Из 0.676 г фенилизотиоцианата (5 ммоль, 1 экв.), 0.413 г глицина (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.773 г 4-хлорбензальдегида (5.5 ммоль, 1 экв.) получили после перекристаллизации из ледяной уксусной кислоты 0.976 г соединения **129** в виде порошка ярко-жёлтого цвета. Выход 62%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.66 (с., 1H, NH), 7.89 – 7.81 (м., 2H, аромат.), 7.56 – 7.43 (м., 5H, аромат.), 7.41 – 7.36 (м., 2H, аромат.), 6.68 (с., 1H, C=CH-).

(Z)-5-(4-бромбензилиден)-2-тиоксо-3-фенилимидазолидин-4-он 130 [241]

Из 0.676 г фенилизотиоцианата (5 ммоль, 1 экв.), 0.413 г глицина (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 1.018 г 4-бромбензальдегида (5.5 ммоль, 1 экв.) получили после перекристаллизации из ледяной уксусной кислоты 0.862 г соединения **130** в виде порошка ярко-жёлтого цвета. Выход 48%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.65 (с., 1H, NH), 7.78 (д., J = 8.5 Гц, 2H, аромат.), 7.65 (д., J = 8.5 Гц, 2H, аромат.), 7.55 – 7.44 (м., 3H, аромат.), 7.41 – 7.36 (м., 2H, аромат.), 6.66 (с., 1H, C=CH-).

(Z)-5-(4-метоксибензилиден)-2-тиоксо-3-фенилимидазолидин-4-он 131 [241]

Из 0.676 г фенилизотиоцианата (5 ммоль, 1 экв.), 0.413 г глицина (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.749 г 4-метоксибензальдегида (5.5 ммоль, 1 экв.) получили после перекристаллизации из 95% этанола 0.791 г соединения **131** в виде порошка ярко-жёлтого цвета. Выход 48%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 11.98 (с., 1H, NH), 7.83 (д., J = 8.4 Гц, 2H, аромат.), 7.54 – 7.46 (м., 3H, аромат.), 7.42 – 7.35 (м., 2H, аромат.), 7.02 (д., J = 8.4 Гц, 2H, аромат.), 6.68 (с., 1H, C=CH-), 3.83 (с., 3H, OCH₃).

(Z)-5-бензилиден-2-тиоксо-3-фенилимидазолидин-4-он 132 [241]

Из 0.676 г фенилизотиоцианата (5 ммоль, 1 экв.), 0.413 г глицина (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.584 г бензальдегида (5.5 ммоль, 1 экв.) получили после перекристаллизации из ледяной уксусной кислоты 0.791 г соединения **132** в виде порошка ярко-жёлтого цвета. Выход 48%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.63 (с., 1H, NH), 7.87 – 7.79 (м., 2H, аромат.), 7.57 – 7.36 (м., 8H, аромат.), 6.70 (с., 1H, C=CH-).

(Z)-2-тиоксо-3-фенил-5-(4-фторбензилиден)имидазолидин-4-он 133 [241]

Из 0.676 г фенилизотиоцианата (5 ммоль, 1 экв.), 0.413 г глицина (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.683 г 4-фторбензальдегида (5.5 ммоль, 1 экв.) получили после колоночной хроматографией (элюент — ПЭ/ЭА 5:1) 0.761 г соединения **133** в виде порошка ярко-жёлтого цвета. Выход 51%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.64 (с., 1H, NH), 7.90 (дд., J = 8.6, 5.5 Гц, 2H, аромат.), 7.57 – 7.43 (м., 3H, аромат.), 7.42 – 7.36 (м., 2H, аромат.), 7.30 (т., J = 8.7 Гц, 2H, аромат.), 6.71 (с., 1H, C=CH-).

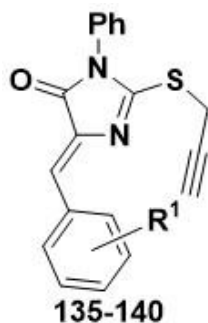
HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₆H₁₁FN₂OS + Na]⁺: 321.0468; найдено 321.0469.

(Z)-2-тиоксо-3-фенил-5-(3-хлорбензилиден)имидазолидин-4-он 134 [241]

Из 0.676 г фенилизотиоцианата (5 ммоль, 1 экв.), 0.413 г глицина (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.773 г 3-хлорбензальдегида (5.5 ммоль, 1 экв.) получили после колоночной хроматографией (элюент — ПЭ/ЭА 5:1) 1.196 г соединения **134** в виде порошка ярко-жёлтого цвета. Выход 76%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 12.82 (с., 1H, NH), 7.98 – 7.88 (м., 1H, аромат.), 7.78 – 7.69 (м., 1H, аромат.), 7.56 – 7.35 (м., 7H, аромат.), 6.67 (с., 1H, C=CH-).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₆H₁₁ClN₂OS + Na]⁺: 337.0173; найдено 337.0173.

Получение S-пропаргил тиогидантоинов 135-140

К суспензии N(3)-фенил 2-тиогидантоинов **129-134** (1 экв.) в 95% этаноле (10 мл/1 ммоль) добавляли твёрдый KOH (1.2 экв.), после чего реакционная смесь перемешивается при комнатной температуре до полного растворения и образования раствора тёмно-красного цвета. Далее по каплям добавляли пропаргилбромид (1.2 экв.) и продолжали перемешивание в течение 12 ч. По окончании реакции наблюдали образование осадка жёлтого цвета, к полученному раствору добавляли двукратный избыток холодной воды, осадок отделяли фильтрованием, промывали холодным 95% этанолом, водой и небольшим количеством петролейного эфира. Твёрдый остаток сушили на воздухе и очищали колоночной хроматографией (элюент — градиент ПЭ/ЭА 6:1 → 2:1), получая целевой продукт.

(Z)-2-(проп-2-ин-1-илтио)-3-фенил-5-(4-хлорбензилиден)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он (135)

Из 0.629 г тиогидантоина **129** (2 ммоль, 1 экв.), 0.286 г пропаргилбромида (2.4 ммоль, 1.2 экв., 0.185 мл) и 0.135 г КОН (2.4 ммоль, 1.2 экв.) получили 0.332 г соединения **135** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 47%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 8.33 (д., J = 8.4 Гц, 2H, аромат.), 7.61 – 7.48 (м., 5H, аромат.), 7.47 – 7.36 (м., 2H, аромат.), 7.03 (с., 1H, -C=CH-), 4.19 (д., J = 2.6 Гц, 2H, S-CH₂-), 3.32 (т., J = 2.6 Гц, 1H, -C≡CH).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 167.91, 163.87, 138.11, 134.74, 133.50 (2C), 133.07, 132.05, 129.71 (2C), 129.59, 128.94 (2C), 127.68 (2C), 122.17, 78.90, 74.62, 19.14.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₉H₁₃ClN₂OS + Na]⁺: 375.0329; найдено 375.0335.

(Z)-5-(4-бромбензилиден)-2-(проп-2-ин-1-илтио)-3-фенил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он (136)

Из 0.718 г тиогидантоина **130** (2 ммоль, 1 экв.), 0.286 г пропаргилбромида (2.4 ммоль, 1.2 экв., 0.185 мл) и 0.135 г КОН (2.4 ммоль, 1.2 экв.) получили 0.405 г соединения **136** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 51%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 8.24 (д., J = 8.3 Гц, 2H, аромат.), 7.67 (д., J = 8.3 Гц, 2H, аромат.), 7.61 – 7.16 (м., 5H, аромат.), 7.00 (с., 1H, -C=CH-), 4.18 (д., J = 2.6 Гц, 2H, S-CH₂-), 3.33 (т., J = 2.6 Гц, 1H, -C≡CH).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 167.91, 163.94, 138.21, 133.68 (2C), 133.37, 132.04, 131.88 (2C), 129.71 (2C), 129.59, 127.68 (2C), 123.73, 122.22, 78.90, 74.64, 19.16.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₁₉H₁₃BrN₂OS + H]⁺: 397.0005; найдено 397.0012.

(Z)-5-(4-метоксибензилиден)-2-(проп-2-ин-1-илтио)-3-фенил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он (137)

Из 0.776 г тиогидантоина **131** (2.5 ммоль, 1 экв.), 0.358 г пропаргилбромида (3 ммоль, 1.2 экв., 0.231 мл) и 0.168 г КОН (3 ммоль, 1.2 экв.) получили 0.387 г соединения **137** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 37%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 8.29 (д., J = 8.9 Гц, 2H, аромат.), 7.61 – 7.47 (м., 3H, аромат.), 7.45 – 7.35 (м., 2H, аромат.), 7.05 (д., J = 8.9 Гц, 2H, аромат.), 7.01 (с., 1H, -C=CH-), 4.18 (д., J = 2.6 Гц, 2H, S-CH₂-), 3.84 (с., 3H, OCH₃), 3.31 (т., J = 2.6 Гц, 1H, -C≡CH).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 167.94, 160.96, 135.74, 133.91 (2C), 132.22, 129.55 (2C), 129.30, 127.54, (2C) 126.77, 124.15, 114.42 (2C), 78.95, 74.43, 55.37, 18.88.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{20}H_{16}N_2O_2S + Na]^+$: 371.0825; найдено 371.0825.

(Z)-5-бензилиден-2-(проп-2-ин-1-илтио)-3-фенил-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он (138)

Из 0.56 г тиогидантоина **132** (2.5 ммоль, 1 экв.), 0.286 г пропаргилбромида (2.4 ммоль, 1.2 экв., 0.185 мл) и 0.135 г KOH (2.4 ммоль, 1.2 экв.) получили 0.51 г соединения **138** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 84%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 8.31 (д., J = 7.5 Гц, 2H, аромат.), 7.60 – 7.50 (м., 3H, аромат.), 7.50 – 7.40 (м., 5H, аромат.), 7.03 (с., 1H, -C=CH-), 4.20 (д., J = 1.7 Гц, 2H, S-CH₂-), 3.33 – 3.29 (м., 1H, -C≡CH).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 167.94, 163.16, 137.62, 134.04, 132.07, 131.88 (2C), 130.11, 129.58 (2C), 129.42, 128.76 (2C), 127.59 (2C), 123.68, 78.87, 74.47, 18.97.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{19}H_{14}N_2OS + Na]^+$: 341.0719; найдено 341.0723.

(Z)-2-(проп-2-ин-1-илтио)-3-фенил-5-(4-фторбензилиден)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он (139)

Из 0.597 г тиогидантоина **133** (2 ммоль, 1 экв.), 0.286 г пропаргилбромида (2.4 ммоль, 1.2 экв., 0.185 мл) и 0.135 г KOH (2.4 ммоль, 1.2 экв.) получили 0.464 г соединения **139** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 69%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 8.39 (дд., J = 8.7, 5.9 Гц, 2H, аромат.), 7.61 – 7.50 (м., 3H, аромат.), 7.45 – 7.40 (м., 2H, аромат.), 7.32 (т., J = 8.9 Гц, 2H, аромат.), 7.06 (с., 1H, -C=CH-), 4.19 (д., J = 2.7 Гц, 2H, S-CH₂-), 3.33 (т., J = 2.7 Гц, 1H, -C≡CH).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 167.93, 163.27, 137.28 (д., J_{CF} = 2.6 Гц), 134.28 (д., J_{CF} = 8.6 Гц, 2C), 132.06, 130.82, 129.62 (2C), 129.47, 127.62 (2C), 122.49, 115.92 (д., J_{CF} = 21.6 Гц, 2C), 78.87, 74.57, 19.02.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{19}H_{13}FN_2OS + Na]^+$: 359.0625; найдено 359.0625.

(Z)-2-(проп-2-ин-1-илтио)-3-фенил-5-(3-хлорбензилиден)-3,5-дигидро-4H-имидазол-4-он (140)

Из 0.629 г тиогидантоина **134** (2 ммоль, 1 экв.), 0.286 г пропаргилбромида (2.4 ммоль, 1.2 экв., 0.185 мл) и 0.135 г KOH (2.4 ммоль, 1.2 экв.) получили 0.461 г соединения **140** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 65%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 8.48 (д., $J = 2.1$ Гц, 1H, аромат.), 8.27 – 8.17 (м., 1H, аромат.), 7.63 – 7.38 (м., 7H, аромат.), 7.04 (с., 1H, $-\text{C}=\text{CH}-$), 4.18 (д., $J = 2.6$ Гц, 2H, $\text{S}-\text{CH}_2-$), 3.32 (т., $J = 2.6$ Гц, 1H, $-\text{C}\equiv\text{CH}$).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 167.76, 164.49, 138.63, 136.18, 133.47, 131.96, 130.96, 130.53, 130.36, 129.63 (2C), 129.52, 128.80, 127.64 (2C), 121.61, 78.78, 74.44, 19.11.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{19}\text{H}_{13}\text{ClN}_2\text{OS} + \text{Na}]^+$: 375.0329; найдено 375.0332.

Получение S-пропаргил диспироиндолинонов 141-147



(2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-1-фенил-2-(проп-2-ин-1-илтио)-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (141)*

По общей методике получения диспироиндолинонов (стр. 134) из 0.352 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **135**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — градиент ПЭ/ЭА 4:1 → 2:1) получили 0.285 г соединения **141** в виде белого порошка. Выход 47%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.44 (с., 1H, NH), 7.62 – 7.53 (м., 2H, аромат.), 7.48 (дд., $J = 8.3, 2.1$ Гц, 1H, аромат.), 7.46 – 7.38 (м., 3H, аромат.), 7.36 – 7.31 (м., 2H, аромат.), 7.29 (д., $J = 2.1$ Гц, 1H, аромат.), 6.78 (д., $J = 8.3$ Гц, 1H, аромат.), 6.72 – 6.65 (м., 2H, аромат.), 4.12 – 4.03 (м., 2H, пирролидин), 3.71 – 3.58 (м., 2H, $-\text{S}-\text{CH}_2-$), 3.57 – 3.47 (м., 1H, пирролидин), 3.04 (т., $J = 2.6$ Гц, 1H, $-\text{C}\equiv\text{CH}$), 2.19 (с., 3H, NCH_3).

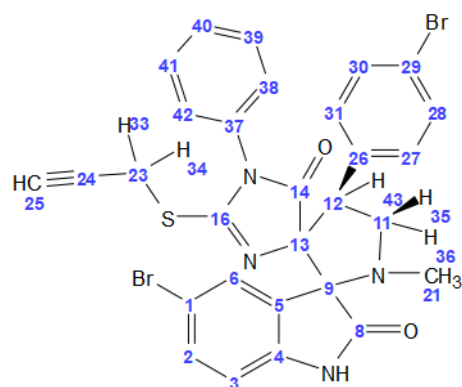
^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 180.45, 175.46, 159.98, 143.13, 135.75, 132.60, 132.34 (2C), 131.59, 131.14, 129.62 (2C), 128.67, 127.59 (2C), 126.99 (2C), 126.59, 112.92, 111.41, 83.82, 78.09, 76.98, 74.18, 60.04, 50.93, 34.44, 18.28.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{29}\text{H}_{22}\text{BrClN}_4\text{O}_2\text{S} + \text{Na}]^+$: 627.0228; найдено 627.0234.

(2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2-(проп-2-ин-1-илтио)-1-фенилдиспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (142)*

Из 0.397 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **136**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — градиент ПЭ/ЭА 4:1 → 2:1) получили 0.332 г соединения **142** в виде белого порошка. Выход 51%.

Для соединения **142** были зарегистрированы двумерные спектры (HMBC и HSQC, см. Приложение), а также спектр HOMODEC, с помощью анализа которых удалось сделать полное отнесение сигналов в спектрах.



^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 600 МГц, δ , м.д.): 10.43 (с., 1Н, NH), 7.55 – 7.51 (м., 2Н, H^{27} , H^{31}), 7.48 (дд., 1Н, $^3J = 8.3$ Гц, $^4J = 2.1$ Гц, H^2), 7.49 – 7.45 (м., 2Н, H^{28} , H^{30}), 7.45 – 7.38 (м., 3Н, H^{39} , H^{40} , H^{41}), 7.28 (д., $^4J = 2.1$ Гц, 1Н, H^6), 6.78 (д., $^3J = 8.3$ Гц, 1Н, H^3), 6.71 – 6.66 (2Н, H^{38} , H^{42}), 4.10 – 4.02 (м., 2Н, H^{35} , H^{12}), 3.67 (дд., $^2J = 16.1$ Гц, $^4J = 2.7$ Гц, 1Н, H^{33}), 3.62 (дд., $^2J = 16.1$ Гц, $^4J = 2.7$ Гц, 1Н, H^{34}), 3.56 – 3.48 (м., 1Н, H^{36}), 3.03 (т., $^4J = 2.7$ Гц, 1Н, H^{25}), 2.19 (с., 3Н, CH_3).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 151 МГц, δ , м.д.): 180.4 (C^{14}), 175.4 (C^8), 160.0 (C^{16}), 143.1 (C^4), 136.2 (C^{26}), 132.7 (2С, C^{27} , C^{31}), 132.6 (C^2), 131.1 (C^{37}), 130.5 (2С, C^{28} , C^{30}), 129.63 (C^{40}), 129.61 (2С, C^{39} , C^{41}), 128.7 (C^6), 127.0 (2С, C^{38} , C^{42}), 126.6 (C^5), 120.2 (C^{29}), 112.9 (C^1), 111.4 (C^3), 83.8 (C^{13}), 78.1 (C^{24}), 77.0 (C^9), 74.2 (C^{25}), 60.0 (C^{11}), 51.0 (C^{12}), 34.4 (C^{21}), 18.3 (C^{23}).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{29}\text{H}_{22}\text{Br}_2\text{N}_4\text{O}_2\text{S} + \text{Na}]^+$: 670.9722; найдено 670.9728.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-4'-(4-метоксифенил)-2-(проп-2-ин-1-илтио)-1-фенилдиспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (143)

Из 0.348 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **136**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — градиент ПЭ/ЭА 4:1 → 2:1) получили 0.312 г соединения **143** в виде белого порошка. Выход 47%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.57 (с., 1Н, NH), 7.55 (д., $J = 2.2$ Гц, 1Н, аромат.), 7.43 (дд., $J = 8.3$, 2.2 Гц, 1Н, аромат.), 7.40 – 7.31 (м., 3Н, аромат.), 7.24 (д., $J = 8.7$ Гц, 2Н, аромат.), 6.87 (д., $J = 8.7$ Гц, 2Н, аромат.), 6.73 (д., $J = 8.3$ Гц, 1Н, аромат.), 6.49 – 6.40 (м., 2Н, аромат.), 4.76 (т., $J = 9.3$ Гц, 1Н, пирролидин), 4.10 – 3.95 (м., 2Н, -S-CH₂-), 3.77 (т., $J = 8.6$ Гц, 1Н, пирролидин), 3.72 (с., 3Н, OCH₃), 3.52 (т., $J = 9.4$ Гц, 1Н, пирролидин), 3.40 (т., $J = 2.6$ Гц, 1Н, -C≡CH), 2.21 (с., 3Н, NCH₃).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{30}\text{H}_{25}\text{BrN}_4\text{O}_3\text{S} + \text{Na}]^+$: 623.0723; найдено 623.0730.

(2'R*,4S*,4'S*)-1'-метил-2-(проп-2-ин-1-илтио)-1,4'-дифенилдиспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (144)

Из 0.318 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **138**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.294 г (2 ммоль, 2 экв.) изатина после колоночной хроматографии (элюент — градиент ПЭ/ЭА 4:1 → 2:1) получили 0.22 г соединения **144** в виде белого порошка. Выход 45%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.21 (с., 1H, NH), 7.54 (д., J = 7.1 Гц, 2H, аромат.), 7.43 – 7.14 (м., 8H, аромат.), 6.94 (дт., J = 8.6, 4.3 Гц, 1H, аромат.), 6.79 (д., J = 7.6 Гц, 1H, аромат.), 6.64 – 6.56 (м., 2H, аромат.), 4.18 (т., J = 9.3 Гц, 1H, пирролидин), 4.06 (т., J = 9.0 Гц, 1H, пирролидин), 3.70 – 3.53 (м., 2H, -S-CH₂-), 3.49 (т., J = 7.7 Гц, 1H, пирролидин), 3.11 – 3.03 (м., 1H, -C≡CH), 2.18 (с., 3H, NCH₃).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.64, 176.06, 174.88, 143.84, 136.85, 131.28, 130.40 (2C), 129.75, 129.50 (2C), 129.11, 127.90, 127.61 (2C), 127.05 (2C), 126.80, 124.36, 120.98, 109.24, 84.11, 77.96, 77.19, 74.46, 59.98, 51.93, 34.40, 18.24.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₉H₂₄N₄O₂S + Na]⁺: 627.0228; найдено 627.0234.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2-(проп-2-ин-1-илтио)-1,4'-дифенилдиспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (145)

Из 0.352 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **138**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — градиент ПЭ/ЭА 4:1 → 2:1) получили 0.257 г соединения **141** в виде белого порошка. Выход 47%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.40 (с., 1H, NH), 7.57 – 7.51 (м., 2H, аромат.), 7.50 – 7.45 (м., 1H, аромат.), 7.45 – 7.36 (м., 3H, аромат.), 7.33 – 7.25 (м., 3H, аромат.), 7.24 – 7.17 (м., 1H, аромат.), 6.78 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 6.71 – 6.64 (м., 2H, аромат.), 4.17 – 4.01 (м., 2H, пирролидин), 3.60 (дд., J = 16.2, 2.5 Гц, 2H, -S-CH₂-), 3.50 (т., J = 7.8 Гц, 1H, пирролидин), 3.06 (т., J = 2.5 Гц, 1H, -C≡CH), 2.20 (с., 3H, NCH₃).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.61, 175.40, 159.54, 143.13, 136.59, 132.52, 131.20, 130.37 (2C), 129.62 (2C), 129.59, 128.74, 127.65 (2C), 126.95 (2C), 126.84, 126.76, 112.85, 111.33, 84.12, 77.95, 77.00, 74.42, 59.92, 51.93, 34.48, 18.27.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₉H₂₃BN₄O₂S + Na]⁺: 593.0617; найдено 593.0620.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-1-фенил-2-(проп-2-ин-1-илтио)-4'-(4-фторфенил)диспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (146)

Из 0.352 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **139**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — градиент ПЭ/ЭА 4:1 → 2:1) получили 0.406 г соединения **146** в виде белого порошка. Выход 69%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.44 (с., 1H, NH), 7.60 (дд., *J* = 8.6, 5.8 Гц, 2H, аромат.), 7.48 (дд., *J* = 8.3, 2.1 Гц, 1H, аромат.), 7.45 – 7.38 (м., 3H, аромат.), 7.29 (д., *J* = 2.1 Гц, 1H, аромат.), 7.10 (т., *J* = 8.9 Гц, 1H, аромат.), 6.78 (д., *J* = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 6.71 – 6.64 (м., 2H, аромат.), 4.13 – 4.01 (м., 2H, пирролидин), 3.71 – 3.57 (м., 2H, -S-CH₂-), 3.56 – 3.46 (м., 1H, пирролидин), 3.07 (т., *J* = 2.6 Гц, 1H, -C≡CH), 2.19 (с., 3H, NCH₃).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.57, 175.55, 159.86, 143.15, 132.86 (д., *J*_{CF} = 2.9 Гц), 132.61, 132.47, 132.39 (2C), 131.19, 129.66 (2C), 128.81, 127.71 (д., *J*_{CF} = 205.4 Гц), 127.02 (2C), 118.18, 114.47 (д., *J*_{CF} = 20.63 Гц, 2C), 112.95, 111.43, 83.92, 78.14, 77.01, 74.29, 60.30, 50.95, 34.48, 18.30.

HRMS-ESI: *m/z* рассчитано для [C₂₉H₂₂BrFN₄O₂S + Na]⁺: 589.0709; найдено 589.0712.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-1-фенил-2-(проп-2-ин-1-илтио)-4'-(3-хлорфенил)диспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (147)

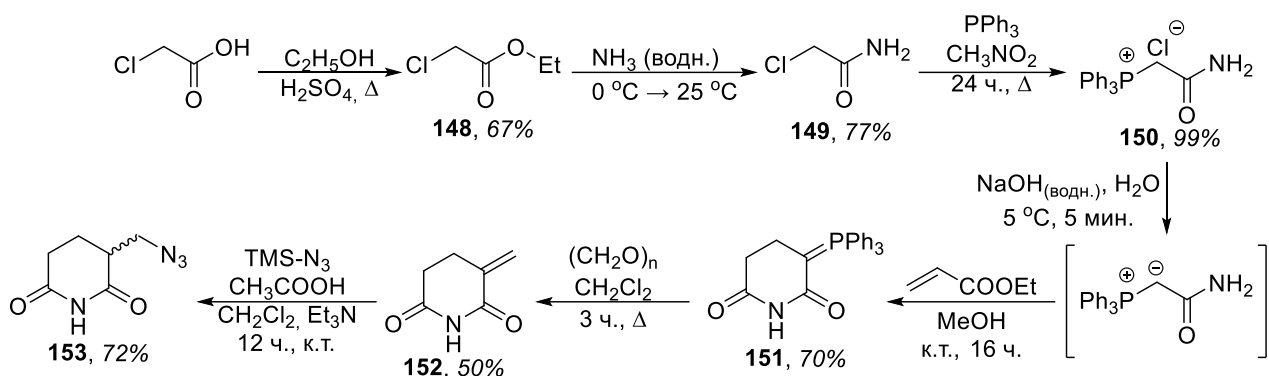
Из 0.352 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **140**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после колоночной хроматографии (элюент — градиент ПЭ/ЭА 4:1 → 2:1) получили 0.393 г соединения **147** в виде белого порошка. Выход 65%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.47 (с., 1H, NH), 7.76 – 7.72 (м., 1H, аромат.), 7.52 – 7.37 (м., 5H, аромат.), 7.34 – 7.23 (м., 3H, аромат.), 6.80 (д., *J* = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 6.75 – 6.65 (м., 2H, аромат.), 4.18 – 3.99 (м., 2H, пирролидин), 3.71 – 3.58 (м., 2H, -S-CH₂-), 3.56 – 3.52 (м., 1H, пирролидин), 3.02 (т., *J* = 2.6 Гц, 1H, -C≡CH), 2.19 (с., 3H, NCH₃).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.45, 175.59, 160.14, 143.18, 139.82, 139.36, 132.69, 132.38, 131.15, 130.55, 129.66, 129.39, 129.30, 128.78, 128.68, 127.05, 126.87, 121.76, 118.18, 113.03, 111.51, 83.78, 77.86, 76.99, 74.30, 60.21, 51.05, 34.47, 18.27.

HRMS-ESI: *m/z* рассчитано для [C₂₉H₂₂BrClN₄O₂S + Na]⁺: 627.0228; найдено 627.0230.

Получение 3-(азидометил)пиперидин-2,6-диона **153 [65,230,231]**



Этиловый эфир 2-хлоруксусной кислоты (148)

70.87 г Хлоруксусной кислоты (0.75 моль, 1 экв.) растворяли в 36.4 г 95% этанола (0.75 моль, 1 экв., 46 мл), добавляли 4.5 мл концентрированной серной кислоты и кипятили с обратным холодильником в течение 3 часов. По окончании реакции раствор охлаждали до комнатной температуре, добавляли равное по объёму количество воды, отделяли нижний органический слой, промывали водой, сушили над Na_2SO_4 (безв.) и перегоняли с коротким дефлегматором ($T_{\text{кип.}} = 43^\circ\text{C}$ при 20 мм.рт.ст.), получая 63.1 г соединения **148** в виде прозрачной жидкости. Выход 67%.

^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 4.19 (к., $J = 7.2$ Гц, 2H, -O-CH₂-), 4.01 (с., 2H, -CH₂-C(O)-), 1.25 (т., $J = 7.2$ Гц, 3H, CH₃).

Хлорацетамид (149)

В трёхгорлой колбе на 250 мл, снабжённой термометром и капельной воронкой помещают 61 г соединения **148** (0.5 моль, 1 экв.) и охлаждали до 0°C с помощью ледяной бани. Далее в течение 30 минут добавляли по каплям 25% водный раствор аммиака (1 моль, 68 г р-ра, 2 экв.) и перемешивали в течение 16 ч. Выпавший осадок фильтровали, промывали холодным 95% этанолом и диэтиловым эфиром, сушили на воздухе, после чего перекристаллизовывали из воды, получая 33.2 г соединения **149** в виде белого порошка. Выход 71%.

^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 7.61 (с., 1H, NH), 7.37 (с., 1H, NH), 4.01 (с., 2H, -CH₂-).

(2-Амино-2-оксоэтил)трифенилфосфоний хлорид (150)

32.73 г 2-хлорацетамида **149** (0.35 моль, 1 экв.) и 96.4 трифенилфосфина (0.3675 моль, 1.05 экв.) растворяли в 200 мл безводного нитрометана, после чего кипятили с обратным холодильником в течение 24 ч. Далее охлаждали раствор до комнатной температуры, наблюдая образование осадка белого цвета, который отделяли фильтрованием, промывали этилацетатом (2*10 мл) и диэтиловым эфиром (2*10 мл), после чего сушили в эксикаторе над P_2O_5 . После

сушки получили 123.2 г соединения **150** в виде кристаллического вещества белого цвета. Выход 99%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 8.48 (уш.с., 1H, NH), 7.92 – 7.70 (м., 15H, аромат.), 7.62 (уш.с., 1H, NH), 5.15 (д., J = 14.9 Гц, 2H, -CH₂-).

2-Трифенилфосфоранилиденглутаримид (151)

112.1 г соли **150** (0.315 моль, 1.05 экв.) растворяли в 1 л холодной (4-5 °С) деионизованной воды, после чего добавляли раствор 12 г гидроксида натрия (0.3 моль, 1 экв.) в 50 мл воды. В результате образовывался осадок, который фильтровали, промывали водой (3*300 мл) и диэтиловым эфиром (3*300 мл), сушили при пониженном давлении в течение 4 часов. Далее полученный интермедиат переносили в круглодонную колбу на 1 л и при интенсивном перемешивании добавляли 500 мл безводного метанола и 33 г этилакрилата (0.33 моль, 1.1 экв., 36 мл), продолжали перемешивание при комнатной температуре в течение 16 ч. По окончании реакции осадок фильтровали, промывали метанолом (2*100 мл) и диэтиловым эфиром (3*10 мл), сушили на воздухе, получая 78.5 г соединения **151** в виде кристаллического белого вещества. Выход 70%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 9.13 (уш.с., 1H, NH), 7.71 – 7.53 (м., 15H, аромат.), 2.35 – 2.26 (м., 2H, -CH₂-), 2.00 – 1.91 (м., 2H, -C(O)-CH₂-).

3-Метиленпиперидин-2,6-дион (152)

В колбу добавляли 78.4 г соединения **151** (0.21 моль, 1.05 экв.), 6 г параформа (0.2 моль, 1 экв.) и 150 мг гидрохинона, растворяли полученную смесь в 750 мл безводного дихлорэтана и кипятили с обратным холодильником в течение 3 ч. Затем реакционную смесь охлаждали до комнатной температуры, фильтровали образующийся осадок, после чего при пониженном давлении упаривали растворитель из фильтрата. Получающийся твёрдый остаток перекристаллизовывали из смеси хлороформа (100 мл) с бензолом (250 мл) при кипячении, осадок отделяли фильтрованием и очищали колоночной хроматографией (элюент — ПЭ/ЭА 1:1), получая 12.5 г продукта **152** в виде порошка светло-серого цвета. Выход 50%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.84 (с., 1H, NH), 6.06 (с., 1H, -C=CH₂), 5.64 (с., 1H, -C=CH₂), 2.70 – 2.62 (м., 2H, -(CH₂)₂-), 2.57 – 2.49 (м., 2H, -(CH₂)₂-).

3-(Азидометил)пиперидин-2,6-дион (153)

20.7 г азидотриметилсилана (0.18 моль, 3 экв., 23.7 мл) растворяли в безводном ДХМ (200 мл), после чего добавляли 10.8 г ледяной уксусной кислоты (0.18 моль, 3 экв., 10.3 мл) и

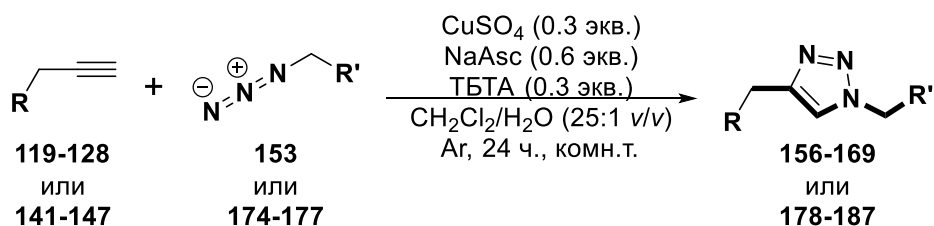
перемешивали в течение 20 минут. Параллельно в другой колбе к 7.5 г соединения **152** (0.06 моль, 1 экв.) добавляли при перемешивании 1.23 г триэтиламина (0.012 моль, 0.2 экв., 1.7 мл), после чего выливали в эту же колбу раствор TMS-N₃/AcOH в ДХМ. Реакционную смесь перемешивали при комнатной температуре в течение 12 ч. (контроль по ТСХ), после чего упаривали растворители при пониженном давлении. Твёрдый остаток очищали колоночной хроматографией (элюент — градиент ДХМ/ЭА 30:1 → 2:1), получая 7.25 г соединения **153** в виде светло-серого порошка.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.80 (с., 1H, NH), 3.76 – 3.57 (м., 2H, -CH₂-N₃), 2.79 (дк., J = 12.2, 4.9 Гц, 1H, -CH-), 2.64 – 2.44 (м., 2H, -(CH₂)₂-), 1.96 – 1.72 (м., 2H, -(CH₂)₂-).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 172.35, 172.24, 50.81, 41.70, 31.55, 21.92.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₆H₈N₄O₂ + 2Na – H]⁺: 213.0359; найдено 213.0358.

Общая методика получения конъюгатов диспироиндолинонов с глутаримидом (типы VI и VII) или несимметричных бис-диспироиндолинонов (типы VIII и IX) с помощью клик-реакции



Соответствующий диспироиндолинон **119-128** или **141-147** (1 экв.) растворяли в перегнанном ДХМ (5 мл/0.1 ммоль), добавляли ТБТА (0.3 экв.), после чего при интенсивном перемешивании добавляли р-р CuSO₄•5H₂O (0.3 экв.) в 200 мкл деионизованной воды и р-р аскорбата натрия (0.6 экв.) в 200 мкл деионизованной воды, заполняли колбу аргоном и оставляли перемешиваться при комнатной температуре в течение 30 минут. Далее добавляли р-р глутаримида **153** или N(1)-азидопропил диспироиндолинона **174-177** (1 экв.) в перегнанном ДХМ (2.5 мл/0.1 ммоль), продували повторно колбу аргоном и оставляли реакционную смесь перемешиваться на 24 ч. при комнатной температуре. По окончании реакции упаривали растворители, а твёрдый остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (элюент — градиент CH₂Cl₂/CH₃OH 100:1 → 20:1), получая целевой продукт клик-реакции в виде смеси диастереомеров, соотношение которых определяется по сигналу NH-протона индолинонового фрагмента.

^1H , аромат.), 4.78 – 4.62 (м., 3H, H(5) + H(5') + H(6)), 4.56 – 4.45 (м., 1H, H(6')), 4.23 (т., $J = 9.7$ Гц, 1H, H(2)), 3.89 – 3.79 (м., 1H, H(3)), 3.45 (т., $J = 8.8$ Гц, 1H, H(2')), 3.15 – 3.03 (м., 1H, H(7)), 2.54 – 2.43 (м., 2H, H(9) + H(9')), 2.10 (с., 3H, NCH₃), 1.67 – 1.49 (м., 2H, H(8) + H(8')).

^{13}C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ , м.д.): 180.26, 174.33, 174.27, 171.95, 171.76, 141.91, 141.49, 136.24, 133.52, 132.27, 131.40, 128.79 (2C), 127.77 (2C), 126.29, 124.24, 113.62, 111.82, 77.22, 76.09, 56.08, 50.21, 48.96, 41.31, 35.78, 34.74, 30.92, 21.16.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₉H₂₆BrClN₈O₄S + Na]⁺: 719.0562; найдено 719.0573.

(2'R,4S*,4'S*)-4'-(4-бромфенил)-1-((1-((2,6-диоксопиперидин-3-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (158)*

Из 99 мг диспироиндолинона **121** (0.2 ммоль, 1 экв.), 34 мг 3-азидометилглутаримида **153** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг CuSO₄•5H₂O (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 110 мг соединения **158** (смесь диастереомеров, $dr = 3:5$) в виде порошка белого цвета. Выход 83%.

^1H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ , м.д.): 10.87 (с., 1H, NH(10)), 10.57 (с., 1H, NH(1)), 10.04 (с., 1H, N(4)H), 7.48 – 7.40 (м., 2H, аромат.), 7.37 – 7.18 (м., 5H, аромат.), 6.95 – 6.83 (м., 1H, аромат.), 6.77 (дд., $J = 7.8$, 4.8 Гц, 1H, аромат.), 4.75 – 4.65 (м., 3H, H(5) + H(5') + H(6)), 4.53 – 4.42 (м., 1H, H(6')), 4.20 (т., $J = 9.5$ Гц, 1H, H(2)), 3.93 – 3.83 (м., 1H, H(3)), 3.41 (т., $J = 8.7$ Гц, 1H, H(2')), 3.14 – 3.02 (м., 1H, H(7)), 2.59 – 2.38 (м., 2H, H(9) + H(9')), 2.07 (с., 3H, NCH₃), 1.65 – 1.47 (м., 2H, H(8) + H(8')).

^{13}C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ , м.д.): 180.41, 174.89, 173.15 (2C), 172.49, 142.84, 141.57, 134.32, 131.84, 131.22 (2C), 128.77 (2C), 127.76, 127.08, 123.29, 121.64, 120.83, 109.80, 76.95, 75.94, 56.30, 50.10, 48.92, 41.27, 35.76, 34.61, 30.73, 21.16.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₉H₂₇BrN₈O₄S + Na]⁺: 685.0952; найдено 685.0957.

(2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-4'-(4-бромфенил)-1-((1-((2,6-диоксопиперидин-3-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (159)*

Из 57 мг диспироиндолинона **122** (0.1 ммоль, 1 экв.), 17 мг 3-азидометилглутаримида **153** (0.1 ммоль, 1 экв.), 7.5 мг CuSO₄•5H₂O (0.03 ммоль, 0.3 экв.), 12 мг аскорбата натрия (0.06 ммоль, 0.6 экв.) и 16 мг ТБТА (0.03 ммоль, 0.3 экв.) получили 51 мг соединения **159** (смесь диастереомеров, $dr = 3:4$) в виде порошка белого цвета. Выход 69%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.86 (с., 1H, NH(10)), 10.70 (с., 1H, NH(1)), 10.27 (с., 1H, N(4)H), 7.52 – 7.40 (м., 3H, аромат.), 7.39 – 7.30 (м., 2H, аромат.), 7.30 – 7.23 (м., 3H, аромат.), 6.76 (дд., *J* = 8.3, 2.8 Гц, 1H, аромат.), 4.78 – 4.63 (м., 3H, H(5) + H(5') + H(6)), 4.56 – 4.45 (м., 1H, H(6')), 4.21 (т., *J* = 9.2 Гц, 1H, H(2)), 3.89 – 3.77 (м., 1H, H(3)), 3.45 (т., *J* = 8.9 Гц, 1H, H(2')), 3.15 – 3.00 (м., 1H, H(7)), 2.60 – 2.39 (м., 2H, H(9) + H(9')), 2.10 (с., 3H, NCH₃), 1.67 – 1.48 (м., 2H, H(8) + H(8')).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.28, 174.32, 173.13 (2C), 171.99, 141.92, 141.48, 136.24, 133.96, 132.64, 131.75, 129.75, 128.79 (2C), 127.77 (2C), 126.27, 113.61, 111.82, 77.15, 76.04, 56.03, 50.22, 48.97, 41.31, 35.79, 34.73, 30.92, 21.16.

HRMS-ESI: *m/z* рассчитано для [C₂₉H₂₆Br₂N₈O₄S + Na]⁺: 763.0057; найдено 763.0068.

(2'R*,4S*,4'S*)-1-((1-((2,6-диоксопиперидин-3-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-1'-метил-4'-(4-метоксифенил)-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (160)

Из 90 мг диспироиндолинона **123** (0.2 ммоль, 1 экв.), 34 мг 3-азидометилглутаримида **153** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг CuSO₄•5H₂O (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 55 мг соединения **160** (смесь диастереомеров, *dr* = 2:3) в виде порошка белого цвета. Выход 45%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.82 (с., 1H, NH(10)), 10.59 (с., 1H, NH(1)), 9.95 (с., 1H, N(4)H), 7.40 – 7.30 (м., 5H, аромат.), 7.31 – 7.24 (м., 3H, аромат.), 6.90 – 6.83 (м., 1H, аромат.), 4.75 – 4.61 (м., 3H, H(5) + H(5') + H(6)), 4.33 – 4.15 (м., 1H, H(6')), 3.88 (т., *J* = 9.4 Гц, 1H, H(2)), 3.83 – 3.67 (м., 1H, H(3)), 3.62 (с., 3H, OCH₃), 3.40 (т., *J* = 8.4 Гц, 1H, H(2')), 3.17 – 3.02 (м., 1H, H(7)), 2.66 – 2.45 (м., 2H, H(9) + H(9')), 2.10 (с., 3H, NCH₃), 1.86 – 1.72 (м., 2H, H(8) + H(8')).

HRMS-ESI: *m/z* рассчитано для [C₃₀H₃₀N₈O₅S + Na]⁺: 637.1958; найдено 637.1970.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1-((1-((2,6-диоксопиперидин-3-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-1'-метил-4'-(4-метоксифенил)-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (161)

Из 105 мг диспироиндолинона **124** (0.2 ммоль, 1 экв.), 34 мг 3-азидометилглутаримида **153** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг CuSO₄•5H₂O (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 69 мг соединения **161** (смесь диастереомеров, *dr* = 4:5) в виде порошка белого цвета. Выход 50%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.88 (с., 1H, NH(10)), 10.68 (с., 1H, NH(1)), 10.20 (с., 1H, N(4)H), 7.57 – 7.48 (м., 1H, аромат.), 7.48 – 7.40 (м., 1H, аромат.), 7.39 – 7.21 (м., 4H, аромат.), 7.09 (д., *J* = 3.9 Гц, 1H, аромат.), 6.86 – 6.72 (м., 1H, аромат.), 4.77 – 4.62 (м., 3H, H(5) + H(5') + H(6)), 4.54 – 4.41 (м., 1H, H(6')), 4.19 (т., *J* = 9.3 Гц, 1H, H(2)), 3.87 – 3.76 (м., 1H, H(3)), 3.62 (с., 3H, OCH₃), 3.41 (т., *J* = 8.9 Гц, 1H, H(2')), 3.17 – 3.01 (м., 1H, H(7)), 2.58 – 2.39 (м., 2H, H(9) + H(9')), 2.11 (с., 3H, NCH₃), 1.64 – 1.52 (м., 2H, H(8) + H(8')).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.01, 174.38, 173.08 (2C), 171.82, 141.74, 141.58, 136.22, 132.48, 129.75, 128.73 (2C), 127.72 (2C), 126.48, 126.10, 123.06, 113.52, 111.74, 77.27, 76.17, 56.36, 54.99, 50.40, 48.89, 41.26, 35.75, 34.75, 30.87, 21.12.

HRMS-ESI: *m/z* рассчитано для [C₃₀H₂₉BrN₈O₅S + Na]⁺: 715.1057; найдено 715.1067.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1-((1-((2,6-диоксопиперидин-3-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-1'-метил-2-тиоксо-4'-(4-фторфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (162)

Из 103 мг диспироиндолинона **127** (0.2 ммоль, 1 экв.), 34 мг 3-азидометилглутаримида **153** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг CuSO₄•5H₂O (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 82 мг соединения **162** (смесь диастереомеров, *dr* = 3:4) в виде порошка белого цвета. Выход 60%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.87 (с., 1H, NH(10)), 10.71 (с., 1H, NH(1)), 10.40 (с., 1H, N(4)H), 7.56 – 7.40 (м., 2H, аромат.), 7.40 – 7.17 (м., 5H, аромат.), 6.76 (дд., *J* = 8.3, 3.0 Гц, 1H, аромат.), 4.78 – 4.63 (м., 3H, H(5) + H(5') + H(6)), 4.55 – 4.45 (м., 1H, H(6')), 4.24 (т., *J* = 8.1 Гц, 1H, H(2)), 3.85 (тд., *J* = 9.4, 3.8 Гц, 1H, H(3)), 3.44 (т., *J* = 8.7 Гц, 1H, H(2')), 3.14 – 3.03 (м., 1H, H(7)), 2.59 – 2.39 (м., 2H, H(9) + H(9')), 2.11 (с., 3H, NCH₃), 1.63 – 1.51 (м., 2H, H(8) + H(8')).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.31, 174.26, 173.12 (2C), 171.94, 141.93, 141.42, 137.03, 132.62, 129.76, 128.76 (2C), 128.62 (д., *J*_{CF} = 175.2 Гц), 127.74 (2C), 126.23, 124.23, 113.59, 111.80, 77.17, 76.07, 56.11, 50.25, 48.94, 41.30, 35.77, 34.71, 30.89, 21.14.

HRMS-ESI: *m/z* рассчитано для [C₂₉H₂₆BrFN₈O₄S + K – 2H]⁻: 717.0440; найдено 717.0413.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1-((1-((2,6-диоксопиперидин-3-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-1'-метил-2-тиоксо-4'-(3-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (163)

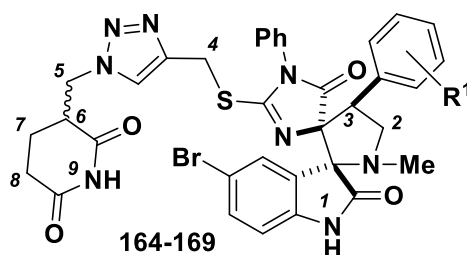
Из 106 мг диспироиндолинона **128** (0.2 ммоль, 1 экв.), 34 мг 3-азидометилглутаримида **153** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 77 мг соединения **163** (смесь диастереомеров, $dr = 5:7$) в виде порошка белого цвета. Выход 55%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.88 (с., 1H, NH(10)), 10.70 (с., 1H, NH(1)), 10.30 (с., 1H, N(4)H), 7.56 – 7.47 (м., 1H, аромат.), 7.43 (дд., $J = 8.2, 2.0$ Гц, 1H, аромат.), 7.38 – 7.25 (м., 3H, аромат.), 7.21 (д., $J = 11.5$ Гц, 1H, аромат.), 7.11 – 7.01 (м., 1H, аромат.), 6.76 (дд., $J = 8.3, 2.4$ Гц, 1H, аромат.), 4.78 – 4.61 (м., 3H, H(5) + H(5') + H(6)), 4.55 – 4.44 (м., 1H, H(6')), 4.29 – 4.19 (м., 1H, H(2)), 3.83 (тд., $J = 9.4, 4.8$ Гц, 1H, H(3)), 3.44 (т., $J = 8.8$ Гц, 1H, H(2')), 3.14 – 3.03 (м., 1H, H(7)), 2.59 – 2.39 (м., 2H, H(9) + H(9')), 2.11 (с., 3H, NCH_3), 1.63 – 1.47 (м., 2H, H(8) + H(8')).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 180.21, 174.28, 173.11 (2C), 171.72, 141.85, 141.77, 136.94, 133.08, 132.65, 129.92, 129.78, 129.41, 128.15, 127.83, 126.20, 124.40, 113.72, 111.70, 77.22, 76.85, 56.36, 50.30, 48.92, 41.22, 35.76, 34.75, 30.90, 21.15.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{29}\text{H}_{26}\text{BrClN}_8\text{O}_4\text{S} + \text{Na}]^+$: 719.0562; найдено 719.0555.

Получение конъюгатов диспироиндолинонов с глутаримидом типа VI 164-169



(2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-2-(((1-((2,6-диоксопиперидин-3-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)тио)-1'-метил-1-фенил-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (164)*

Из 60 мг диспироиндолинона **141** (0.1 ммоль, 1 экв.), 17 мг 3-азидометилглутаримида **153** (0.1 ммоль, 1 экв.), 7.5 мг $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.03 ммоль, 0.3 экв.), 12 мг аскорбата натрия (0.06 ммоль, 0.6 экв.) и 16 мг ТБТА (0.03 ммоль, 0.3 экв.) получили 55 мг соединения **164** (смесь диастереомеров, $dr = 1:1$) в виде порошка белого цвета. Выход 71%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.87 (с., 1H, NH(9)), 10.49 (с. 1H, NH(1)), 7.706 (с., 1H, аромат.), 7.58 – 7.53 (м., 2H, аромат.), 7.53 – 7.47 (м., 3H, аромат.), 7.44 – 7.27 (м., 4H, аромат.), 6.82 (д., $J = 8.3$ Гц, 1H, аромат.), 6.71 – 6.65 (м., 2H, аромат.), 4.79 (дд., $J = 14.0, 4.9$ Гц, 1H, H(5)), 4.56 (дд., $J = 14.0, 7.9$ Гц, 1H, H(5')), 4.13 – 4.07 (м., 2H, H(2) + H(3)), 4.07 (д., $J = 14.1,$

Гц, 1H, H(4)), 4.02 (д., $J = 14.1$, Гц, 1H, H(4')), 3.58 – 3.50 (м., 1H, H(2')), 3.21 – 3.09 (м., 1H, H(6)), 2.60 – 2.40 (м., 2H, H(8) + H(8')), 2.21 (с., 3H, NCH₃), 1.69 – 1.60 (м., 2H, H(7) + H(7')).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ , м.д.): 180.28, 175.94, 173.16, 173.11, 161.33, 143.03, 141.55, 136.40, 132.71 (2C), 132.65, 131.28, 130.57 (2C), 129.57, 129.56 (2C), 128.77, 128.02, 127.08 (2C), 126.77, 124.60, 113.11, 111.54, 83.94, 77.07, 59.91, 50.90, 49.17, 41.24, 34.47, 30.89, 24.96, 21.27.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₃₅H₃₀BrClN₈O₄S + Na]⁺: 795.0875; найдено 795.0881.

(2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-4'-(4-бромфенил)-2-(((1-((2,6-диоксопиперидин-3-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)тио)-1'-метил-1-фенилдиспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (165)*

Из 60 мг диспироиндолинона **142** (0.1 ммоль, 1 экв.), 17 мг 3-азидометилглутаримида **153** (0.1 ммоль, 1 экв.), 7.5 мг CuSO₄•5H₂O (0.03 ммоль, 0.3 экв.), 12 мг аскорбата натрия (0.06 ммоль, 0.6 экв.) и 16 мг ТБТА (0.03 ммоль, 0.3 экв.) получили 54 мг соединения **165** (смесь диастереомеров, $dr = 1:1$) в виде порошка белого цвета. Выход 66%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ , м.д.): 10.87 (с., 1H, NH(9)), 10.52 (с., 1H, NH(1)), 7.90 (с., 1H, аромат.), 7.64 – 7.58 (м., 2H, аромат.), 7.49 (дд., $J = 8.3$, 2.1 Гц, 1H, аромат.), 7.45 – 7.26 (м., 6H, аромат.), 6.82 (д., $J = 8.3$ Гц, 1H, аромат.), 6.71 – 6.66 (м., 2H, аромат.), 4.77 (дд., $J = 14.0$, 4.9 Гц, 1H, H(5)), 4.54 (дд., $J = 14.1$, 7.9 Гц, 1H, H(5')), 4.14 – 4.06 (м., 2H, H(2) + H(3)), 4.07 – 4.01 (м., 2H, H(4) + H(4')), 3.58 – 3.50 (м., 1H, H(2')), 3.19 – 3.09 (м., 1H, H(6)), 2.62 – 2.39 (м., 2H, H(8) + H(8')), 2.20 (с., 3H, NCH₃), 1.59 – 1.69 (м. 2H, H(7) + H(7')).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ , м.д.): 180.29, 175.94, 173.14, 173.11, 161.31, 143.03, 141.55, 135.96, 132.64, 131.32 (2C), 131.60, 129.57, 129.60 (2C), 128.77, 128.05, 127.63 (2C), 127.08 (2C), 126.80, 124.60, 113.10, 111.53, 83.98, 77.06, 59.93, 50.84, 49.12, 41.23, 34.47, 30.88, 24.92, 21.25.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₃₅H₃₀Br₂N₈O₄S + Na]⁺: 839.0370; найдено 839.0375.

(2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-2-(((1-((2,6-диоксопиперидин-3-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)тио)-1'-метил-4'-(4-метоксифенил)-1-фенилдиспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (166)*

Из 59 мг диспироиндолинона **143** (0.1 ммоль, 1 экв.), 17 мг 3-азидометилглутаримида **153** (0.1 ммоль, 1 экв.), 7.5 мг CuSO₄•5H₂O (0.03 ммоль, 0.3 экв.), 12 мг аскорбата натрия (0.06

ммоль, 0.6 экв.) и 16 мг ТБТА (0.03 ммоль, 0.3 экв.) получили 32 мг соединения **166** (смесь диастереомеров, $dr = 1:1$) в виде порошка белого цвета. Выход 43%.

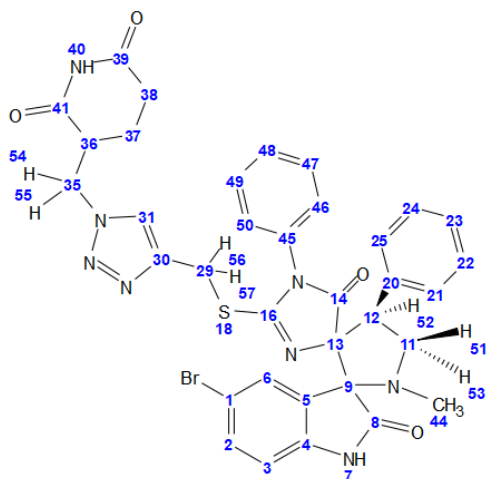
^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.82 (с., 1H, NH(9)), 10.65 (с., 1H, NH(1)), 7.80 (с., 1H, аромат.), 7.60–7.46 (м., 3H, аромат.), 7.45–7.29 (м., 6H, аромат.), 6.83–6.67 (м., 3H, аромат.), 4.72 (дд., $J = 14.0, 5.6$ Гц, 1H, H(5)), 4.48 (дд., $J = 14.0, 5.6$ Гц, 1H, H(5')), 4.10–4.05 (м., 2H, H(2) + H(3)), 4.03–3.95 (м., 2H, H(4) + H(4')), 3.62 (с., 3H, OCH₃), 3.44–3.38 (м., 1H, H(2')), 3.17–3.03 (м., 1H, H(6)), 2.60–2.38 (м., 2H, H(8) + H(8')), 2.12 (с., 3H, NCH₃), 1.67–1.58 (м., 2H, H(7) + H(7')).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{36}\text{H}_{33}\text{BrN}_8\text{O}_5\text{S} + \text{Na}]^+$: 791.1370; найдено 791.1369.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-2-(((1-((2,6-диоксопиперидин-3-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)тио)-1'-метил-1,4'-дифенилдиспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (167)

Из 112 мг диспироиндолинона **145** (0.2 ммоль, 1 экв.), 34 мг 3-азидометилглутаримида **153** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 94 мг соединения **167** (смесь диастереомеров, $dr = 11:9$) в виде порошка белого цвета. Выход 64%.

Для соединения **167** были зарегистрированы двумерные спектры (HMBC, HSQC и COSY, см. Приложение), с помощью анализа которых удалось провести полное отнесение сигналов.



^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 600 МГц, δ , м.д.): *Изомер А*: 10.886 (с., 1H, H⁴⁰), 10.476 (с., 1H, H⁷), 7.59–7.56 (м., 2H, H²¹, H²⁵), 7.514 (с., 1H, H³¹), 7.483 (дд., $^3J = 8.3$ Гц, $^4J = 2.2$ Гц, H²), 7.44–7.38 (м., 3H, H⁴⁷, H⁴⁸, H⁴⁹), 7.35–7.30 (м., 3H, H⁶, H²², H²⁴), 7.25–7.29 (м., 1H, H²³), 6.812 (д., $^3J = 8.3$ Гц, 1H, H³), 6.69–6.66 (м., 2H, H⁴⁶, H⁵⁰), 4.752 (дд., $^2J = 14.0$ Гц, $^3J = 5.2$ Гц, 1H, H⁵⁴), 4.496 (дд., $^2J = 14.0$ Гц, $^3J = 8.0$ Гц, 1H, H⁵⁵), 4.206 (дд., $^2J = 8.4$, $^3J = 10.0$ Гц, 1H, H⁵¹), 4.097 (дд., $^2J = 7.8$ Гц, $^3J = 10.0$ Гц, 1H, H⁵²), 4.029 (д., $^2J = 14.1$ Гц, 1H, H⁵⁶), 3.955 (д., $^2J = 14.1$ Гц, 1H, H⁵⁷), 3.536 (дд., $^2J = 8.4$, $^3J = 7.8$ Гц, 1H, H⁵³), 3.15–3.08 (м., 1H, H³⁶), 2.56–2.51 (м., 1H, H^{38'}), 2.48–2.44 (м., 1H, H³⁸), 2.219 (с., 3H, CH₃), 1.60–1.68 (м., 2H, H³⁷, H^{37'}); *Изомер Б*: 10.878 (с., 1H, H⁴⁰), 10.507 (с., 1H, H⁷), 7.59–7.56 (м., 2H, H²¹, H²⁵), 7.563 (с., 1H, H³¹), 7.485 (дд., $^3J = 8.3$ Гц, $^4J = 2.2$ Гц, H²), 7.44–7.38 (м., 3H, H⁴⁷, H⁴⁸, H⁴⁹), 7.35–7.30 (м., 3H, H⁶, H²², H²⁴), 7.24–7.27 (м., 1H,

H²³), 6.809 (д., ³J = 8.3 Гц, 1H, H³), 6.69 – 6.66 (м., 2H, H⁴⁶, H⁵⁰), 4.76 (дд., ²J = 14.0 Гц, ³J = 5.2 Гц, 1H, H⁵⁴), 4.525 (дд., ²J = 14.0 Гц, ³J = 8.0 Гц, 1H, H⁵⁵), 4.202 (дд., ²J = 8.4, ³J = 10.0 Гц, 1H, H⁵¹), 4.093 (дд., ²J = 7.8 Гц, ³J = 10.0 Гц, 1H, H⁵²), 4.024 (д., ²J = 14.1 Гц, 1H, H⁵⁶), 3.965 (д., ²J = 14.1 Гц, 1H, H⁵⁷), 3.534 (дд., ²J = 8.4, ³J = 7.8 Гц, 1H, H⁵³), 3.15 – 3.08 (м., 1H, H³⁶), 2.59 – 2.54 (м., 1H, H^{38'}), 2.41 – 2.45 (м., 1H, H³⁸), 2.221 (с., 3H, CH₃), 1.60 – 1.68 (м., 2H, H³⁷, H^{37'});

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 151 МГц, δ, м.д.): *Изомер А*: 180.46 (C¹⁴), 175.90 (C⁸), 173.16 (2C, C³⁹, C⁴¹), 161.05 (C¹⁶), 143.03 (C⁴), 141.82 (C³⁰), 136.93 (C²⁰), 132.57 (C²), 131.34 (C⁴⁵), 130.29 (2C, C²¹, C²⁵), 129.58 (2C, C⁴⁷, C⁴⁹), 129.56 (C⁴⁸), 128.83 (C⁶), 127.82 (2C, C²², C²⁴), 127.07 (2C, C⁴⁶, C⁵⁰), 127.0 (C⁵), 126.96 (C²³), 124.45 (C³¹), 113.05 (C¹), 111.48 (C³), 84.34 (C¹³), 77.05 (C⁹), 59.54 (C¹¹), 51.71 (C¹²), 49.16 (C³⁵), 41.24 (C³⁶), 34.53 (C⁴⁴), 30.87 (C³⁸), 24.79 (C²⁹), 21.29 (C³⁷); *Изомер Б*: 180.46 (C¹⁴), 175.90 (C⁸), 173.16 (2C, C³⁹, C⁴¹), 161.01 (C¹⁶), 143.03 (C⁴), 141.82 (C³⁰), 136.86 (C²⁰), 132.57 (C²), 131.34 (C⁴⁵), 130.29 (2C, C²¹, C²⁵), 129.58 (2C, C⁴⁷, C⁴⁹), 129.56 (C⁴⁸), 128.88 (C⁶), 127.78 (2C, C²², C²⁴), 127.07 (2C, C⁴⁶, C⁵⁰), 127.0 (C⁵), 126.96 (C²³), 124.37 (C³¹), 113.05 (C¹), 111.45 (C³), 84.31 (C¹³), 77.05 (C⁹), 59.56 (C¹¹), 51.78 (C¹²), 49.11 (C³⁵), 41.22 (C³⁶), 34.53 (C⁴⁴), 30.88 (C³⁸), 24.81 (C²⁹), 21.24 (C³⁷).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₃₅H₃₁BrN₈O₄S + Na]⁺: 761.1265; найдено 761.1273.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-2-(((1-((2,6-диоксопиперидин-3-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)тио)-1'-метил-1-фенил-4'-(4-фторфенил)диспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (168)

Из 118 мг диспироиндолинона **146** (0.2 ммоль, 1 экв.), 34 мг 3-азидометилглутаримида **153** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг CuSO₄•5H₂O (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 97 мг соединения **168** (смесь диастереомеров, dr = 4:5) в виде порошка белого цвета. Выход 64%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.87 (с., 1H, NH(9)), 10.47 (с., 1H, NH(1)), 7.65 – 7.59 (м., 2H, аромат.), 7.51 – 7.26 (м., 7H, аромат.), 7.16 – 7.09 (м., 2H, аромат.), 6.84 – 6.79 (м., 1H, аромат.), 6.71 – 6.66 (м., 1H, аромат.), 4.86 – 4.73 (м., 1H, H(5)), 4.57 – 4.45 (м., 1H, H(5')), 4.15 – 4.08 (м., 2H, H(4) + H(4')), 4.08 – 3.97 (м., 2H, H(2) + H(3)), 3.58 – 3.50 (м., 1H, H(2')), 3.20 – 3.08 (м., 1H, H(6)), 2.61 – 2.42 (м., 2H, H(8) + H(8')), 2.21 (с., 3H, NCH₃), 1.67 – 1.60 (м., 2H, H(7) + H(7')).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.35, 175.97, 173.13, 173.09, 161.13, 143.01, 141.49, 133.03, 132.62, 132.35, 131.31 (2C), 130.94, 129.66 (2C), 129.57 (2C), 128.82, 127.72,

127.08 (2C), 126.75, 124.62, 113.10, 111.51, 84.02, 77.04, 59.99, 50.86, 49.10, 41.21, 34.48, 30.89, 24.92, 21.27.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{35}H_{30}BrFN_8O_4S + Na]^+$: 779.1170; найдено 779.1165.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-2-(((1-((2,6-диоксопиперидин-3-ил)метил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)тио)-1'-метил-1-фенил-4'-(3-хлорфенил)диспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5(1H)-дион (169)

Из 60 мг диспироиндолинона **147** (0.2 ммоль, 1 экв.), 34 мг 3-азидометилглутаримида **153** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 84 мг соединения **169** (смесь диастереомеров, $dr = 4:5$) в виде порошка белого цвета. Выход 54%.

1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.87 (с., 1H, NH(9)), 10.49 (с., 1H, NH(1)), 7.78 (д., $J = 7.9$ Гц, 1H, аромат.), 7.65 (д., $J = 18.2$ Гц, 1H, аромат.), 7.55 – 7.47 (м., 1H, аромат.), 7.47 – 7.23 (м., 7H, аромат.), 6.86 – 6.72 (м., 1H, аромат.), 6.69 (д., $J = 6.9$ Гц, 1H, аромат.), 6.48 – 6.43 (м., 1H, аромат.), 4.85 – 4.75 (м., 1H, H(5)), 4.62 – 4.41 (м., 2H, H(5') + H(2)), 4.16 – 3.96 (м., 3H, H(3) + H(4) + H(4')), 3.57 (т., $J = 6.3$ Гц, 1H, H(2')), 3.18 – 3.08 (м., 1H, H(6)), 2.50 (п., $J = 1.6$ Гц, 2H, H(8) + H(8')), 2.21 (с., 3H, NCH_3), 1.72 – 1.61 (м., 2H, H(7) + H(7')).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 180.16, 176.02, 173.11 (2C), 161.48, 143.00, 141.57, 139.58, 132.68, 131.25, 130.51, 129.69, 129.57 (2C), 129.23, 128.79, 127.67, 127.10 (2C), 126.88, 126.74, 126.37, 124.48, 113.17, 111.60, 83.85, 76.98, 59.93, 51.00, 49.20, 41.22, 34.46, 30.89, 24.90, 21.23.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{35}H_{30}BrClN_8O_4S + Na]^+$: 795.0875; найдено 795.0874.

4.2.7. Синтез несимметричных бис-диспироиндолинонов структурных типов VIII и IX

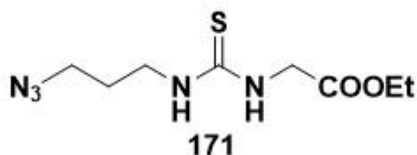
3-Азидопропанамин-1 (170) [242]

4.38 г гидробромида 3-бромпропанамин-1 (20 ммоль, 1 экв.) растворяли в 15 мл деионизованной воды, добавляли 3.9 г азидата натрия (60 ммоль, 3 экв.), после чего реакционную смесь перемешивали при 80 °C в течение 16 ч. После добавляли 2.8 г твёрдого гидроксида калия (50 ммоль, 2.5 экв.), образующийся амин **170** экстрагировали диэтиловым эфиром (3*15 мл). Органическую фазу объединяли, промывали водой, сушили над Na_2SO_4 (безв.), упаривали растворитель при пониженном давлении, получая 1.91 г соединения **170** в виде густого бесцветного масла. Выход 95%.



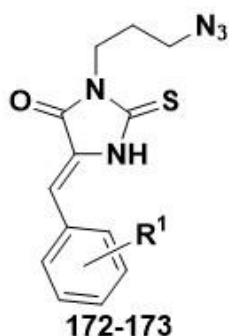
^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 3.37 (т., $J = 6.7$ Гц, 2H, $\text{N}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 2.58 (т., $J = 6.7$ Гц, 2H, $\text{-CH}_2\text{-N}$), 2.33 (уш.с., 2H, NH_2), 1.59 (п., $J = 6.7$ Гц, 2H, $\text{-CH}_2\text{-}$).

Этиловый эфир ((3-азидопропил)карбамотиоил)глицина (171)



1.0 г амина **170** (0.01 моль, 1 экв.) растворяли в 50 мл диэтилового эфира, после чего при интенсивном перемешивании в течение 15 минут прикапывали 1.524 г изотиоцианатоэтилацетата (0.0105 ммоль, 1.05 экв., 1.55 мл), далее реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч. при комнатной температуре (контроль по ТСХ). После окончания реакции упаривали растворитель, получая 2.45 г целевого продукта **171**. Полученное вещество использовали далее без дополнительной очистки.

Получение N(3)-азидопропил 2-тиогидантоинов 172-173



Соединение **171** (1 экв.) растворяли в 95% этаноле (15 мл/1 ммоль), после чего добавляли соответствующий бензальдегид (1.1 экв.) и твёрдый гидроксид калия (2 экв.), в результате образуется раствор бордового цвета. Реакционную смесь перемешивали в течение 3 ч. при комнатной температуре (контроль по ТСХ), после чего добавляли 1М р-р HCl до pH ~4-5 и разбавляли избытком холодной воды, наблюдая выпадение осадка жёлтого цвета. Осадок отделяли фильтрованием, который далее очищали колоночной хроматографией (элюент — ПЭ/ЭА 5:1).

(Z)-3-(3-Азидопропил)-5-(4-хлорбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он (172)

Из 1.225 г тиомочевины **171** (5 ммоль, 1 экв.), 0.773 г 4-хлорбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.56 г гидроксида калия (10 ммоль, 2 экв.) получили 0.94 г соединения **172** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 51%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.43 (с., 1H, NH), 7.77 (д., $J = 8.5$ Гц, 2H, аромат.), 7.47 (д., $J = 8.5$ Гц, 2H, аромат.), 6.60 (с., 1H, -C=CH-), 3.86 (т., $J = 6.9$ Гц, 2H, $\text{N}_3\text{-CH}_2\text{-}$), 3.41 (т., $J = 6.6$ Гц, 2H, $\text{N-CH}_2\text{-}$), 1.86 (п., $J = 6.7$ Гц, 2H, $\text{-CH}_2\text{-}$).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{ClN}_5\text{OS} + \text{Na}]^+$: 344.0343; найдено 344.0348.

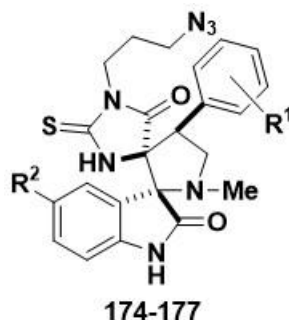
(Z)-3-(3-азидопропил)-5-(4-бромбензилиден)-2-тиоксоимидазолидин-4-он (173)

Из 1.225 г тиомочевины **171** (5 ммоль, 1 экв.), 1.018 г 4-бромбензальдегида (5.5 ммоль, 1.1 экв.) и 0.56 г гидроксида калия (10 ммоль, 2 экв.) получили 1.206 г соединения **173** в виде ярко-жёлтого порошка. Выход 75%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 12.44 (с., 1H, NH), 7.71 (д., $J = 8.6$ Гц, 2H, аромат.), 7.61 (д., $J = 8.6$ Гц, 2H, аромат.), 6.59 (с., 1H, $-\text{C}=\text{CH}-$), 3.86 (т., $J = 6.9$ Гц, 2H, $\text{N}_3\text{-CH}_2-$), 3.41 (т., $J = 6.6$ Гц, 2H, N-CH_2-), 1.86 (п., $J = 6.8$ Гц, 2H, $-\text{CH}_2-$).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{13}\text{H}_{12}\text{BrN}_5\text{OS} + \text{Na}]^+$: 387.9838; найдено 387.9845.

Получение N(3)-азидопропил диспироиндолинонов 166-169



(2'R,4S*,4'S*)-1-(3-азидопропил)-1'-метил-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (174)*

По общей методике получения диспироиндолинонов (стр. 134) из 0.322 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **172**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.294 г (2 ммоль, 2 экв.) изатина после перекристаллизации из 95% этанола получили 0.402 г соединения **174** в виде белого порошка. Выход 81%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.59 (с., 1H, $\text{NH}(1'')$), 10.06 (с., 1H, $\text{NH}(3)$), 7.42 – 7.30 (м., 5H, аромат.), 7.25 (т., $J = 7.7$ Гц, 1H, аромат.), 7.00 (т., $J = 7.7$ Гц, 1H, аромат.), 6.79 (д., $J = 7.7$ Гц, 1H, аромат.), 4.22 (т., $J = 9.3$ Гц, 1H, пирролидин), 3.89 (т., $J = 9.4$ Гц, 1H, пирролидин), 3.51 (дк., $J = 14.3, 7.0$ Гц, 2H, $\text{N}_3\text{-CH}_2-$), 3.42 (т., $J = 8.8$ Гц, 1H, пирролидин), 2.83 (гепт., $J = 6.3$ Гц, 2H, $\text{N}(1)\text{-CH}_2-$), 2.10 (с., 3H, NCH_3), 1.46 – 1.25 (м., 2H, $-\text{CH}_2-$).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 180.90, 175.00, 172.57, 142.76, 133.84, 132.29, 131.43 (2C), 129.96, 128.36 (2C), 127.08, 123.85, 121.61, 109.79, 77.18, 76.03, 56.53, 49.95, 47.51, 37.49, 34.65, 26.30.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{23}\text{H}_{22}\text{ClN}_7\text{O}_2\text{S} + \text{Na}]^+$: 518.1136; найдено 518.1140.

(2'R,4S*,4'S*)-1-(3-азидопропил)-5''-бром-1'-метил-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (175)*

Из 0.322 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **172**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после перекристаллизации из 95% этанола получили 0.387 г соединения **175** в виде белого порошка. Выход 67%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.73 (с., 1H, NH(1'')), 10.24 (с., 1H, NH(3)), 7.51 (д., J = 2.1 Гц, 1H, аромат.), 7.44 (дд., J = 8.3, 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.42 – 7.29 (м., 4H, аромат.), 6.76 (д., J = 8.3 Гц, 1H, аромат.), 4.21 (т., J = 9.2 Гц, 1H, пирролидин), 3.86 (т., J = 9.5 Гц, 1H, пирролидин), 3.60 – 3.47 (м., 2H, N₃-CH₂-), 3.45 (т., J = 8.8 Гц, 1H, пирролидин), 2.88 (т., J = 6.8 Гц, 2H, N(1)-CH₂-), 2.13 (с., 3H, NCH₃), 1.38 (пд., J = 6.9, 3.8 Гц, 2H, -CH₂-).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.88, 174.42, 172.43, 141.97, 133.59, 132.75, 132.34, 131.48 (2C), 129.62, 128.33 (2C), 126.32, 113.60, 111.74, 77.18, 76.11, 56.43, 49.94, 47.58, 37.56, 34.73, 26.36.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₃H₂₁BrClN₇O₂S + Na]⁺: 596.0242; найдено 596.0251.

(2'R*,4S*,4'S*)-1-(3-азидопропил)-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (176)

Из 0.366 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **173**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.294 г (2 ммоль, 2 экв.) изатина после перекристаллизации из 95% этанола получили 0.408 г соединения **176** в виде белого порошка. Выход 76%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.59 (с., 1H, NH(1'')), 10.07 (с., 1H, NH(3)), 7.49 (д., J = 8.1 Гц, 2H, аромат.), 7.36 (д., J = 7.5 Гц, 1H, аромат.), 7.31 (д., J = 8.1 Гц, 2H, аромат.), 7.25 (т., J = 7.7 Гц, 1H, аромат.), 7.00 (т., J = 7.6 Гц, 1H, аромат.), 6.79 (д., J = 7.7 Гц, 1H, аромат.), 4.20 (т., J = 9.1 Гц, 1H, пирролидин), 3.88 (т., J = 9.4 Гц, 1H, пирролидин), 3.51 (дк., J = 14.8, 7.0 Гц, 2H, N₃-CH₂-), 3.42 (т., J = 8.7 Гц, 1H, пирролидин), 2.83 (гепт., J = 6.3 Гц, 2H, N(1)-CH₂-), 2.10 (с., 3H, NCH₃), 1.42 – 1.27 (м., 2H, -CH₂-).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.92, 175.00, 172.61, 142.77, 134.28, 131.79 (2C), 131.29 (2C), 129.98, 127.07, 123.84, 121.61, 120.91, 109.79, 77.18, 75.99, 56.49, 49.98, 47.51, 37.49, 34.65, 26.30.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₃H₂₂BrN₇O₂S + Na]⁺: 562.0631; найдено 562.0637.

(2'R*,4S*,4'S*)-1-(3-азидопропил)-5''-бром-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (177)

Из 0.366 г (1 ммоль, 1 экв.) тиогидантоина **173**, 0.267 г (3 ммоль, 3 экв.) саркозина и 0.452 г (2 ммоль, 2 экв.) 5-бромизатина после перекристаллизации из 95% этанола получили 0.36 г соединения **177** в виде белого порошка. Выход 58%.

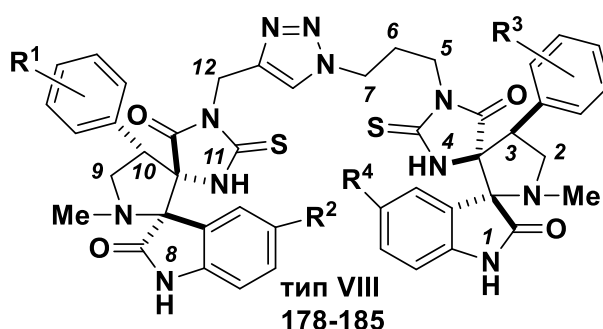
¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.74 (с., 1H, NH(1'')), 10.26 (с., 1H, NH(3)), 7.51 – 7.47 (м., 3H, аромат.), 7.46 – 7.42 (м., 1H, аромат.), 7.32 (д., J = 8.5 Гц, 2H, аромат.), 6.76 (д., J =

8.2 Гц, 1H, аромат.), 4.19 (т., $J = 9.2$ Гц, 1H, пирролидин), 3.86 (т., $J = 9.4$ Гц, 1H, пирролидин), 3.61 – 3.47 (м., 2H, N₃-CH₂-), 3.44 (т., $J = 8.8$ Гц, 1H, пирролидин), 2.87 (т., $J = 6.8$ Гц, 2H, N(1)-CH₂-), 2.12 (с., 3H, NCH₃), 1.46 – 1.30 (м., 2H, -CH₂-).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ , м.д.): 180.90, 174.71, 172.48, 141.99, 134.10, 131.74 (2C), 131.26 (2C), 129.68, 127.37, 126.41, 123.68, 113.61, 111.78, 77.18, 76.08, 56.40, 49.97, 47.59, 37.57, 34.72, 26.36.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₂₃H₂₁Br₂N₇O₂S – H]⁺: 615.9760; найдено 615.9771.

Получение с помощью клик-реакции несимметричных бис-диспириноидинонов структурного типа VIII 178-185



(2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-1-((1-(3-((2'R*,4S*,4'S*)-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2'',5'-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)пропил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-1'-метил-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (178)*

По общей методике проведения клик-реакции (стр. 179) из 106 мг диспириноидинона **120** (0.2 ммоль, 1 экв.), 108 мг диспириноидинона **176** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг CuSO₄•5H₂O (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 173 мг соединения **178** (смесь диастереомеров, $dr = 3:5$) в виде порошка белого цвета. Выход 81%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ , м.д.): 10.72 (с., 1H, NH(8)), 10.59 (с., 1H, NH(1)), 10.27 (с., 1H, NH(11)), 10.01 (с., 1H, NH(4)), 7.51 – 7.44 (м., 3H, аромат.), 7.41 (дт., $J = 8.3, 2.0$ Гц, 1H, аромат.), 7.38 – 7.23 (м., 7H, аромат.), 7.18 – 7.09 (м., 1H, аромат.), 7.01 (д., $J = 6.4$ Гц, 1H, аромат.), 6.95 – 6.84 (м., 1H, аромат.), 6.78 – 6.69 (м., 2H, аромат.), 4.77 – 4.64 (м., 2H, H(12) + H(12')), 4.21 (к., $J = 9.4$ Гц, 2H, H(3) + H(10)), 3.95 – 3.81 (м., 4H, H(2) + H(9) + H(7) + H(7')), 3.57 – 3.38 (м., 4H, H(2') + H(9') + H(5) + H(5')), 2.11 (с., 3H, NCH₃), 2.10 (с., 3H, NCH₃), 1.64 – 1.55 (м., 2H, H(6) + H(6')).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.83, 180.24, 175.04, 174.29, 172.77, 171.90, 142.82, 141.90, 141.31, 134.28, 133.44, 132.54, 132.24, 131.74 (2C), 131.30 (2C), 130.02, 129.77, 128.72 (2C), 128.19 (2C), 127.75, 126.97, 126.29, 122.11, 121.58, 120.88, 113.56, 111.75, 109.79, 77.14, 77.08, 76.04, 76.02, 56.48, 56.05, 50.23, 49.90, 46.59, 37.47, 35.78, 34.69, 34.61, 27.61.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₄₆H₄₀Br₂ClN₁₁O₄S₂ + Na]⁺: 1090.0654; найдено 1090.0659.

(2'R,4S*,4'S*)-1-((1-(3-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5'-диоксо-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)пропил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (179)*

Из 50 мг диспироиндолинона **121** (0.1 ммоль, 1 экв.), 57 мг диспироиндолинона **175** (0.1 ммоль, 1 экв.), 7.5 мг CuSO₄•5H₂O (0.03 ммоль, 0.3 экв.), 12 мг аскорбата натрия (0.06 ммоль, 0.6 экв.) и 16 мг ТБТА (0.03 ммоль, 0.3 экв.) получили 83 мг соединения **179** (смесь диастереомеров, *dr* = 1:1) в виде порошка белого цвета. Выход 78%.

¹H ЯМР (DMCO-d₆, 400 МГц, δ, м.д.): 10.73 (с., 1H, NH(8)), 10.58 (с., 1H, NH(1)), 10.27 (с., 1H, NH(11)), 9.99 (с., 1H, NH(4)), 7.49 (дд., *J* = 4.6, 2.0 Гц, 1H, аромат.), 7.46 – 7.31 (м., 8H, аромат.), 7.31 – 7.25 (м., 2H, аромат.), 7.24 – 7.16 (м., 1H, аромат.), 6.88 – 6.82 (м., 2H, аромат.), 6.80 – 6.69 (м., 2H, аромат.), 4.70 (с., 2H, H(12) + H(12')), 4.28 – 4.15 (м., 2H, H(3) + H(10)), 3.95 – 3.82 (м., 4H, H(2) + H(9) + H(7) + H(7')), 3.59 – 3.38 (м., 4H, H(2') + H(9') + H(5) + H(5')), 2.12 (с., 3H, NCH₃), 2.08 (с., 3H, NCH₃), 1.72 – 1.48 (м., 2H, H(6) + H(6')).

¹³C ЯМР (DMCO-d₆, 101 МГц, δ, м.д.): 180.67, 180.43, 174.94, 174.41, 172.52, 172.41, 142.84, 141.94, 141.41, 134.24, 133.56, 132.71, 132.32, 131.77 (2C), 131.42 (2C), 131.19 (2C), 129.84, 129.54, 128.33 (2C), 127.13, 126.24, 123.65, 122.10, 121.59, 120.82, 113.58, 111.71, 109.72, 77.17, 76.90, 76.18, 75.82, 56.37, 56.30, 50.16, 49.89, 46.59, 37.53, 35.82, 34.70, 34.54, 27.70.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₄₆H₄₀Br₂ClN₁₁O₄S₂ + Na]⁺: 1090.0654; найдено 1090.0650.

(2'R,4S*,4'S*)-1'-метил-1-((1-(3-((2'R*,4S*,4'S*)-1'-метил-2'',5'-диоксо-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)пропил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (180)*

Из 90 мг диспироиндолинона **119** (0.2 ммоль, 1 экв.), 99 мг диспироиндолинона **174** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг CuSO₄•5H₂O (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.)

экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 149 мг соединения **180** (смесь диастереомеров, $dr = 4:3$) в виде порошка белого цвета. Выход 79%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.71 (с., 1H, NH(8)), 10.58 (с., 1H, NH(1)), 10.29 (с., 1H, NH(11)), 10.03 (с., 1H, NH(4)), 7.53 (д., $J = 2.0$ Гц, 1H, аромат.), 7.49 – 7.45 (м., 1H, аромат.), 7.44 – 7.32 (м., 8H, аромат.), 7.30 – 7.24 (м., 2H, аромат.), 7.18 – 7.08 (м., 1H, аромат.), 7.04 – 6.96 (м., 1H, аромат.), 6.95 – 6.86 (м., 1H, аромат.), 6.82 – 6.72 (м., 2H, аромат.), 4.77 – 4.64 (м., 2H, H(12) + H(12')), 4.27 – 4.16 (м., 2H, H(3) + H(10)), 3.94 – 3.81 (м., 4H, H(2) + H(9) + H(7) + H(7')), 3.55 – 3.38 (м., 4H, H(2') + H(9') + H(5) + H(5')), 2.11 (с., 3H, NCH₃), 2.10 (с., 3H, NCH₃), 1.64 – 1.52 (м., 2H, H(6) + H(6')).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 180.88, 180.24, 174.98, 174.09, 172.76, 172.54, 142.73, 141.80, 141.28, 133.86, 132.64, 132.26, 131.60 (2C), 131.39 (2C), 131.18 (2C), 129.93, 129.75, 128.34 (2C), 127.06, 126.13, 123.83, 122.08, 121.59, 120.87, 113.69, 113.55, 111.71, 109.76, 77.16, 77.11, 76.04, 76.00, 56.50, 56.01, 50.12, 49.93, 47.50, 37.47, 35.77, 34.65, 34.62, 26.27.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{46}\text{H}_{41}\text{Cl}_2\text{N}_{11}\text{O}_4\text{S}_2 + \text{Na}]^+$: 968.2059; найдено 968.2063.

(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1-((1-(3-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2'',5'-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)пропил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (181)

Из 115 мг диспироиндолинона **122** (0.2 ммоль, 1 экв.), 124 мг диспироиндолинона **177** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг CuSO₄•5H₂O (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 150 мг соединения **181** (смесь диастереомеров, $dr = 1:1$) в виде порошка белого цвета. Выход 63%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.73 (с., 1H, NH(8)), 10.58 (с., 1H, NH(1)), 10.23 (с., 1H, NH(11)), 9.98 (с., 1H, NH(4)), 7.52 – 7.44 (м., 3H, аромат.), 7.39 – 7.27 (м., 7H, аромат.), 7.26 – 7.16 (м., 1H, аромат.), 7.03 – 6.95 (м., 1H, аромат.), 6.89 – 6.84 (м., 1H, аромат.), 6.80 – 6.69 (м., 2H, аромат.), 4.76 – 4.64 (м., 2H, H(12) + H(12')), 4.26 – 4.16 (м., 2H, H(3) + H(10)), 3.94 – 3.82 (м., 4H, H(2) + H(9) + H(7) + H(7')), 3.63 – 3.37 (м., 4H, H(2') + H(9') + H(5) + H(5')), 2.12 (с., 3H, NCH₃), 2.08 (с., 3H, NCH₃), 1.71 – 1.50 (м., 2H, H(6) + H(6')).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 180.89, 179.52, 174.94, 174.39, 172.44, 171.61, 142.83, 141.97, 141.41, 133.99, 133.80, 132.72, 132.18, 131.79 (2C), 131.40, 131.23 (2C), 129.82 (2C), 129.60, 128.29 (2C), 127.17, 126.30, 123.60, 122.10, 121.72, 120.94, 113.58, 111.72, 109.78, 77.16, 76.97, 76.03, 75.87, 56.36, 55.96, 50.18, 49.97, 47.57, 37.55, 35.81, 34.69, 34.59, 26.35.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{46}H_{39}Br_4N_{11}O_4S_2 + Na]^+$: 1211.9259; найдено 1211.9252.

(2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-1-((1-(3-((2'R*,4S*,4'S*)-1'-метил-2'',5'-диоксо-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)пропил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (182)*

Из 115 мг диспироиндолинона **122** (0.2 ммоль, 1 экв.), 99 мг диспироиндолинона **174** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 180 мг соединения **182** (смесь диастереомеров, $dr = 1:1$) в виде порошка белого цвета. Выход 84%.

¹H ЯМР (DMCO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.71 (с., 1H, NH(8)), 10.56 (с., 1H, NH(1)), 10.27 (с., 1H, NH(11)), 9.96 (с., 1H, NH(4)), 7.48 – 7.44 (м., 2H, аромат.), 7.43 (с., 1H, аромат.), 7.36 – 7.24 (м., 8H, аромат.), 7.22 – 7.13 (м., 1H, аромат.), 6.87 – 6.78 (м., 2H, аромат.), 6.78 – 6.67 (м., 2H, аромат.), 4.74 – 4.61 (м., 2H, H(12) + H(12')), 4.25 – 4.12 (м., 2H, H(3) + H(10)), 3.94 – 3.79 (м., 4H, H(2) + H(9) + H(7) + H(7')), 3.59 – 3.34 (м., 4H, H(2') + H(9') + H(5) + H(5')), 2.10 (с., 3H, NCH₃), 2.05 (с., 3H, NCH₃), 1.69 – 1.47 (м., 2H, H(6) + H(6')).

¹³C ЯМР (DMCO- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 180.71, 180.43, 174.97, 174.42, 172.49, 172.45, 142.85, 141.96, 141.43, 134.00, 133.81, 132.73, 132.20, 131.77 (2C), 131.42 (2C), 131.26 (2C), 129.86, 129.55, 128.28 (2C), 127.16, 126.24, 123.68, 122.11, 121.61, 120.96, 113.59, 111.72, 109.73, 77.17, 76.90, 76.15, 75.89, 56.36, 56.34, 50.15, 49.93, 46.58, 37.54, 35.82, 34.70, 34.56, 27.71.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[C_{46}H_{40}Br_2ClN_{11}O_4S_2 + Na]^+$: 1090.0654; найдено 1090.0654.

(2'R,4S*,4'S*)-1-((1-(3-((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2'',5'-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)пропил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-1'-метил-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (183)*

Из 90 мг диспироиндолинона **119** (0.2 ммоль, 1 экв.), 124 мг диспироиндолинона **177** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг $CuSO_4 \cdot 5H_2O$ (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 147 мг соединения **183** (смесь диастереомеров, $dr = 1:1$) в виде порошка белого цвета. Выход 69%.

¹H ЯМР (DMCO- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.72 (с., 1H, NH(8)), 10.59 (с., 1H, NH(1)), 10.27 (с., 1H, NH(11)), 10.01 (с., 1H, NH(4)), 7.48 (д., $J = 2.0$ Гц, 1H, аромат.), 7.44 – 7.38 (м., 3H, аромат.), 7.38 – 7.31 (м., 5H, аромат.), 7.30 – 7.24 (м., 2H, аромат.), 7.18 – 7.09 (м., 1H, аромат.),

7.01 (с., 1H, аромат.), 6.91 (тд., $J = 7.6$, 1.1 Гц, 1H, аромат.), 6.78 – 6.72 (м., 2H, аромат.), 4.76 – 4.63 (м., 2H, H(12) + H(12')), 4.27 – 4.17 (м., 2H, H(3) + H(10)), 3.95 – 3.80 (м., 4H, H(2) + H(9) + H(7) + H(7')), 3.55 – 3.39 (м., 4H, H(2') + H(9') + H(5) + H(5')), 2.10 (с., 3H, NCH₃), 2.09 (с., 3H, NCH₃), 1.67 – 1.52 (м., 2H, H(6) + H(6')).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ , м.д.): 180.75, 180.25, 175.04, 174.28, 172.75, 171.93, 142.80, 141.91, 141.31, 133.87, 133.85, 132.54, 132.26, 131.70 (2C), 131.38 (2C), 131.11 (2C), 130.01, 129.76, 128.38 (2C), 126.99, 126.27, 123.75, 122.09, 121.58, 120.87, 113.56, 111.74, 109.81, 77.14, 77.08, 76.09, 75.97, 56.52, 56.00, 50.26, 49.88, 46.61, 37.46, 35.79, 34.69, 34.61, 27.62.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₄₆H₄₀Br₂ClN₁₁O₄S₂ + Na]⁺: 1090.0654; найдено 1090.0653.

(2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-1-((1-(3-((2'R*,4S*,4'S*)-1'-метил-2'',5'-диоксо-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)пропил)-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)-2-тиоксо-4'-(4-фторфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5'-дион (184)*

Из 103 мг диспироиндолинона **127** (0.2 ммоль, 1 экв.), 99 мг диспироиндолинона **174** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг CuSO₄•5H₂O (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 117 мг соединения **184** (смесь диастереомеров, $dr = 1:1$) в виде порошка белого цвета. Выход 58%.

¹H ЯМР (ДМСО-d₆, 400 МГц, δ , м.д.): 10.70 (с., 1H, NH(8)), 10.59 (с., 1H, NH(1)), 10.28 (с., 1H, NH(11)), 10.05 (с., 1H, NH(4)), 7.50 (с., 1H, аромат.), 7.44 – 7.29 (м., 9H, аромат.), 7.13 (т., $J = 7.7$ Гц, 1H, аромат.), 7.09 – 6.97 (м., 2H), аромат., 6.93 – 6.86 (м., 1H, аромат.), 6.77 – 6.69 (м., 2H, аромат.), 4.76 – 4.62 (м., 2H, H(12) + H(12')), 4.23 (тд., $J = 9.1$, 4.0 Гц, 2H, H(3) + H(10)), 3.96 – 3.77 (м., 4H, H(2) + H(9) + H(7) + H(7')), 3.55 – 3.38 (м., 4H, H(2') + H(9') + H(5) + H(5')), 2.11 (с., 3H, NCH₃), 2.10 (с., 3H, NCH₃), 1.65 – 1.50 (м., 2H, H(6) + H(6')).

¹³C ЯМР (ДМСО-d₆, 101 МГц, δ , м.д.): 180.83, 180.19, 175.08, 174.34, 172.81, 171.86, 142.84, 141.85, 141.35, 133.90, 132.54, 132.29 (2C), 131.58 (2C), 131.44 (2C), 130.57, 130.04, 129.81, 128.40 (2C), 127.00, 126.36, 123.77, 122.15, 121.60, 115.15, 114.94, 113.59, 111.73, 109.79, 77.15, 77.11, 76.15, 76.09, 56.60, 56.33, 50.28, 49.85, 46.61, 37.46, 35.78, 34.74, 34.63, 27.63.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для [C₄₆H₄₀BrClFN₁₁O₄S₂ + Na]⁺: 1030.1454; найдено 1030.1453.

(2'R,4S*,4'S*)-5''-бром-1-((1-(3-((2'R*,4S*,4'S*)-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2'',5'-диоксо-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-1-ил)пропил)-1H-*

1,2,3-триазол-4-ил)метил)-1'-метил-2-тиоксо-4'-(3-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (185)

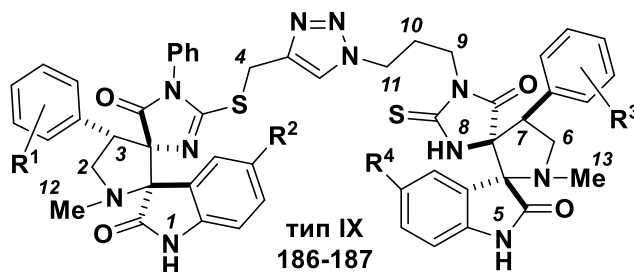
Из 106 мг диспироиндолинона **120** (0.2 ммоль, 1 экв.), 108 мг диспироиндолинона **176** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 58 мг соединения **185** (смесь диастереомеров, $dr = 7:6$) в виде порошка белого цвета. Выход 27%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.71 (с., 1H, NH(8)), 10.59 (с., 1H, NH(1)), 10.43 (с., 1H, NH(11)), 10.06 (с., 1H, NH(4)), 7.51 – 7.44 (м., 2H, аромат.), 7.45 – 7.38 (м., 2H, аромат.), 7.37 – 7.27 (м., 5H, аромат.), 7.26 – 7.20 (м., 2H, аромат.), 7.17 – 7.08 (м., 1H, аромат.), 6.96 (д., $J = 7.9$ Гц, 1H, аромат.), 6.94 – 6.80 (м., 1H, аромат.), 6.78 – 6.70 (м., 2H, аромат.), 4.78 – 4.63 (м., 2H, H(12) + H(12')), 4.28 – 4.16 (м., 2H, H(3) + H(10)), 3.95 – 3.76 (м., 4H, H(2) + H(9) + H(7) + H(7')), 3.54 – 3.38 (м., 4H, H(2') + H(9') + H(5) + H(5')), 2.10 (с., 3H, NCH_3), 2.09 (с., 3H, NCH_3), 1.57 (п., $J = 7.4$ Гц, 2H, H(6) + H(6')).

^{13}C ЯМР (ДМСО- d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 180.84, 180.29, 175.08, 174.25, 172.83, 171.85, 142.83, 141.89, 141.32, 136.97, 134.30, 133.05, 132.56, 131.76 (2C), 131.31 (2C), 130.04, 129.98, 129.76, 129.39, 128.36, 127.60, 126.97, 126.24, 123.74, 122.01, 121.60, 120.89, 113.58, 111.72, 109.76, 77.14, 77.09, 76.06, 76.02, 56.52, 56.12, 50.36, 49.87, 46.62, 37.47, 35.83, 34.69, 34.61, 27.60.

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{46}\text{H}_{40}\text{Br}_2\text{ClN}_{11}\text{O}_4\text{S}_2 + \text{Na}]^+$: 1090.0654; найдено 1090.0655.

Получение с помощью клик-реакции несимметричных бис-диспироиндолинонов структурного типа IX 186-187



(2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1-(3-(4-(((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5'-диоксо-1-фенил-4'-(4-фторфенил)-1,5-дигидродиспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2-ил)тио)метил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)пропил)-1'-метил-2-тиоксо-4'-(4-хлорфенил)диспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (186)

По общей методике проведения клик-реакции (стр. 179) 118 мг диспироиндолинона **146** (0.2 ммоль, 1 экв.), 115 мг диспироиндолинона **175** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 139 мг соединения **186** (смесь диастереомеров, $dr = 3:7$) в виде порошка белого цвета. Выход 60%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.74 (с., 1H, NH(5)), 10.55 (с., 1H, NH(1)), 10.32 (с., 1H, NH(8)), 7.68 – 7.57 (м., 3H, аромат.), 7.53 – 7.45 (м., 3H, аромат.), 7.44 – 7.35 (м., 6H, аромат.), 7.35 – 7.26 (м., 5H, аромат.), 7.10 (т., $J = 8.9$ Гц, 1H, аромат.), 6.86 – 6.77 (м., 1H, аромат.), 6.76 – 6.62 (м., 2H, аромат.), 4.22 (т., $J = 9.2$ Гц, 1H, H(3)), 4.14 – 4.06 (м., 2H, H(4) + H(4')), 4.07 – 3.94 (м., 4H, H(2) + H(7) + H(11) + H(11')), 3.87 (т., $J = 9.6$ Гц, 1H, H(6)), 3.61 – 3.41 (м., 4H, H(6') + H(2') + H(9) + H(9')), 2.21 (с., 3H, NCH_3 (12)), 2.12 (с., 3H, NCH_3 (13)), 1.71 – 1.50 (м., 2H, H(10) + H(10')).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{52}\text{H}_{43}\text{Br}_2\text{ClFN}_{11}\text{O}_4\text{S}_2 + \text{Na}]^+$: 1184.0872; найдено 1184.0861.

(2'R*,4S*,4'S*)-1-(3-(4-(((2'R*,4S*,4'S*)-5''-бром-1'-метил-2'',5'-диоксо-1-фенил-4'-(3-хлорфенил)-1,5-дигидродиспиро[имидазол-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2-ил)тио)метил)-1H-1,2,3-триазол-1-ил)пропил)-4'-(4-бромфенил)-1'-метил-2-тиоксодиспиро[имидазолидин-4,3'-пирролидин-2',3''-индолин]-2'',5-дион (187)

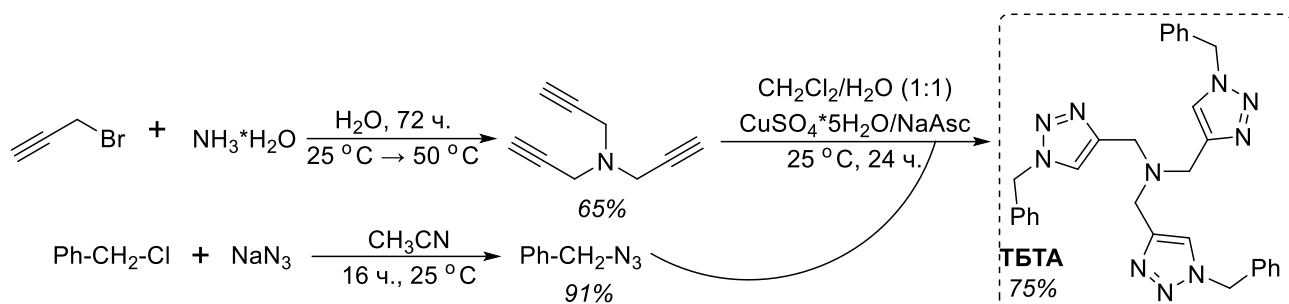
Из 121 мг диспироиндолинона **147** (0.2 ммоль, 1 экв.), 108 мг диспироиндолинона **176** (0.2 ммоль, 1 экв.), 15 мг $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (0.06 ммоль, 0.3 экв.), 24 мг аскорбата натрия (0.12 ммоль, 0.6 экв.) и 32 мг ТБТА (0.06 ммоль, 0.3 экв.) получили 133 мг соединения **187** (смесь диастереомеров, $dr = 1:3$) в виде порошка белого цвета. Выход 58%.

^1H ЯМР (ДМСО- d_6 , 400 МГц, δ , м.д.): 10.59 (с., 1H, NH(5)), 10.56 (с., 1H, NH(1)), 10.12 (с., 1H, NH(8)), 7.83 – 7.76 (м., 1H, аромат.), 7.53 – 7.42 (м., 3H, аромат.), 7.42 – 7.34 (м., 4H, аромат.), 7.33 – 7.24 (м., 7H, аромат.), 7.12 – 7.04 (м., 1H, аромат.), 6.93 – 6.85 (м., 1H, аромат.), 6.84 – 6.78 (м., 1H, аромат.), 6.76 – 6.70 (м., 1H, аромат.), 6.71 – 6.64 (м., 2H, аромат.), 4.79 (дд., $J = 10.2, 8.2$ Гц, 1H, H(11)), 4.20 (т., $J = 9.1$ Гц, 1H, H(3)), 4.13 – 4.05 (м., 2H, H(4) + H(4')), 4.03 – 3.81 (м., 3H, H(11') + H(7) + H(2)), 3.72 – 3.52 (м., 3H, H(6) + H(2') + H(6')), 3.47 – 3.31 (м., 2H, H(9) + H(9')), 2.19 (с., 3H, NCH_3 (12)), 2.07 (с., 3H, NCH_3 (13)), 1.66 – 1.55 (м., 2H, H(10) + H(10')).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{52}\text{H}_{44}\text{Br}_2\text{ClN}_{11}\text{O}_4\text{S}_2 + \text{Na}]^+$: 1166.0967; найдено 1166.0958.

4.2.8. Синтез вспомогательных веществ

Получение трис((1-бензил-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)амин (ТБТА) [232,233]



Три(проп-2-ин-1-ил)амин (154)

17.8 г 3-бром-пропина-1 (0.15 моль, 11.5 мл) добавляли по каплям в течение 3 ч. к 25% водному раствору аммиака (45 мл), после чего перемешивали реакционную смесь в течение 24 ч. при комнатной температуре, наблюдая образование осадка в реакционной смеси. Далее продолжали перемешивание при 50 °С в течение 48 ч. или до полного растворения осадка (контроль по ТСХ). После окончания реакции продукт экстрагировали диэтиловым эфиром (3*50 мл), промывали объединённую органическую фазу водой и сушили над Na_2SO_4 (безв.), упаривали растворитель при пониженном давлении и очищали твёрдый остаток колоночной хроматографией (элюент — диэтиловый эфир/ПЭ 1:1), получая 4.26 г целевого амина в виде густого масла.

^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 3.38 (д., $J = 2.5$ Гц, 6H, $-\text{CH}_2-$), 2.21 (т., $J = 2.5$ Гц, 3H, $-\text{C}\equiv\text{CH}$).

(Азидометил)бензол (155)

8.86 г (хлорметил)бензола (70 ммоль, 1 экв.) растворяли в 400 мл смеси вода:ацетон (1:4), после чего добавляли 6.83 г азид натрия (105 ммоль, 1.5 экв.) и перемешивали реакционную смесь при комнатной температуре в течение 16 ч. Далее добавляли 200 мл ДХМ, органическую фазу отделяли, промывали водой и сушили над Na_2SO_4 (безв.), упаривали растворители при пониженном давлении, получая целевой продукт массой 8.48 г в виде прозрачной жидкости. Выход 91%.

^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 7.47 – 7.32 (м., 5H, аромат.), 4.36 (с., 2H, $-\text{CH}_2-$).

Трис((1-бензил-1H-1,2,3-триазол-4-ил)метил)амин (ТБТА)

2.62 г три(проп-2-ин-1-ил)амин (20 ммоль, 1 экв.) и 8 г (азидометил)бензола (60 ммоль, 3 экв.) растворяли в 95 мл дихлорметана и разбавляли раствор 95 мл деионизованной воды, после чего при интенсивном перемешивании добавляли 0.25 г $\text{CuSO}_4 \cdot 5\text{H}_2\text{O}$ (1 ммоль, 0.05 экв.) и 0.594 г аскорбата натрия (3 ммоль, 0.15 экв.). Реакцию продолжали в течение 24 ч. при

комнатной температуре, далее раствор разбавляли 100 мл ДХМ и 100 мл деионизованной воды, отделяли органическую фазу, промывали её 150 мл насыщенного водного раствора NaCl и 150 мл воды, сушили над Na_2SO_4 (безв.), упаривали растворители при пониженном давлении. Полученный твёрдый остаток очищали с помощью колоночной хроматографии (элюент — $\text{CH}_2\text{Cl}_2/\text{CH}_3\text{OH}$ 10:1), выделяя целевой продукт. Дополнительно его растворяли в 50 мл ацетонитрила при кипячении, после чего раствор охлаждали до 40 °С и добавляли порциями диэтиловый эфир до образования осадка. Раствор охлаждали до 0-5 °С, фильтровали осадок и сушили на воздухе, получая 7.96 г ТБТА в виде белого порошка. Выход 75%.

^1H ЯМР (CDCl_3 , 400 МГц, δ , м.д.): 7.67 (с., 3H, H-триазол), 7.37 – 7.30 (м., 9H, аромат.), 7.26 – 7.21 (м., 6H, аромат.), 5.48 (с., 6H, Ph- CH_2 -), 3.71 (с., 6H, N- CH_2 -).

^{13}C ЯМР (DMCO-d_6 , 101 МГц, δ , м.д.): 144.09 (3C), 134.84 (3C), 129.16 (6C), 128.75 (3C), 128.08 (6C), 123.97 (3C), 54.19 (3C), 47.18 (3C).

HRMS-ESI: m/z рассчитано для $[\text{C}_{30}\text{H}_{30}\text{N}_{10} + \text{Na}]^+$: 553.2547; найдено 553.2545.

5. Заключение

1. Впервые разработана методика получения бис-диспиро-тиоимдазолон-пирролидин-индолинонов, в которых два одинаковых спироиндолиноновых фрагмента соединены полиметиленовыми линкерами.
2. С использованием реакции азид-алкинового циклоприсоединения пропаргил-содержащих диспиро-тиоимдазолон-пирролидин-индолинонов и азид-содержащих диспиро-тиоимдазолон-пирролидин-индолинонов впервые синтезированы бис-диспиро-тиоимдазолон-пирролидин-индолиноны, в которых два различных диспироиндолиноновых фрагмента соединены триазол-содержащим линкером.
3. Разработана методика синтеза диспиро-тиоимдазолон-пирролидин-индолинонов, содержащих фрагменты помалидомида, связанные с диспироиндолиноновым фрагментом амид-содержащим линкером.
4. Предложен метод получения конъюгатов диспиро-тиоимдазолон-пирролидин-индолинонов с глутаримидом с помощью реакции азид-алкинового циклоприсоединения пропаргил-содержащих диспиро-тиоимдазолон-пирролидин-индолинонов и α -азидометилглутаримида.
5. Выявлены бис-диспироиндолинон-пирролидин-имидазолон и конъюгаты диспиро-тиоимдазолон-пирролидин-индолинонов с глутаримидом с наиболее высокой и селективной цитотоксической активностью, зависящей от длины и природы линкера между функциональными фрагментами.

6. Список сокращений и условных обозначений

BCR / БКР — β -cell receptor / β -клеточный рецептор

BRAF — серин/треониновая протеинкиназа

BRD7 — bromodomain-containing protein 7, bromодомен-содержащий белок 7

BRD9 — bromodomain-containing protein 9, bromодомен-содержащий белок 9

COSY — COrrelation SpectroscopY, корреляционная спектроскопия

CRBN — cereblon — белок, являющийся E3-убиквитинлигазой

DABCO/TEDA — 1,4-diazabicyclo[2.2.2]octane / triethylenediamine, 1,4-диазабцикло[2.2.2]октан / триэтилендиамин

DCE/ДХЭ — 1,2-dichloroethane, 1,2-дихлорэтан;

DCM/ДХМ — dichloromethane, дихлорметан;

DIPEA/ДИПЭА — N,N-diisopropylethylamine, N,N-диизопропилэтиламин;

DLBCL / ДКБКЛ — Diffuse Large B-Cell Lymphoma / диффузная крупноклеточная β -клеточная лимфома

DMAP/ДМАП — 4-dimethylaminopyridine, 4-диметиламинопиридин

DMSO/ДМСО — dimethylsulfoxide, диметилсульфоксид

DMF/ДМФА — N,N-dimethylformamide, диметилформамид

HMBC — Heteronuclear multiple-bond correlation spectroscopy, гетероядерная многосвязная корреляционная спектроскопия

HSQC — Heteronuclear Single Quantum Coherence, гетероядерная одноквантовая корреляционная спектроскопия

IRAK4 — Interleukin-1 receptor-associated kinase 4, интерлейкин-1-рецептор-ассоциированная киназа 4

KRAS — Kirsten rat sarcoma virus oncogene homologue, вирус саркомы крысы Кирстена

MDM2 — сокр. от англ. «Mouse Double Minute 2 homolog» — прото-онкоген MDM2

NIS — N-iodsuccinimide, N-иодсукцинимид

- Pd(dba)₃ — Tris(dibenzylideneacetone)dipalladium(0), трис(дибензилиденацетон)дипалладий (0)
- POI — сокp. от англ. «Protein Of Interest» — целевой белок, белок-мишень
- PROTAC — сокp. от англ. «PROteolysis Targeting Chimera» — бифункциональные соединения, способные запускать выборочный протеолиз белков в протеасоме
- STAT 3 — Signal transducer and activator of transcription 3, сигнальный белок и активатор транскрипции 3
- ТВАФ/ТБАФ — tetra-n-butylammonium fluoride, фторид тетра-н-бутиламмония
- ТВАТ — tetrabutylammonium difluorotriphenylsilicate, дифтортрифенилсиликат тетрабутиламмония
- ТВТА — tris((1-benzyl-4-triazolyl)methyl)amine, трис(бензилтриазилил)амин;
- TCL / ТКЛ — T-cell lymphoma / Т-клеточная лимфома
- TFA/ТФУ — trifluoroacetic acid, трифторуксусная кислота
- VHL – сокp. от англ. «von Hippel-Lindau» — белок фон Хиппеля-Линдау, являющийся E3-убиквитинлигазой
- АДФ — аденозиндифосфат
- АМФ — аденозинмонофосфат
- АР — андрогенный рецептор
- АТФ — аденозинтрифосфат
- ВЭЖХ — высокоэффективная жидкостная хроматография
- КРРПЖ — кастрационно-резистентный рак предстательной железы
- ПЭ — петролейный эфир
- РМЖ — рак молочной железы
- РПЖ — рак предстательной железы
- РСА — рентгеноструктурный анализ
- ТКБ — тирозинкиназа Брутона
- ХЛЛ — хронический лимфоцитарный лейкоз

ЭА — этилацетат (этиловый эфир уксусной кислоты)

ЭР — эстрогеновый рецептор

ЯМР — ядерный магнитный резонанс

7. Список литературы

1. Malarvannan M., Unnikrishnan S., Monohar S., Ravichandiran V., Paul D. Design and optimization strategies of PROTACs and its Application, Comparisons to other targeted protein degradation for multiple oncology therapies // *Bioorg. Chem.* 2025. – Т. 154. – С. 107984.
2. Omar E.A., R. R., Das P.K., Pal R., Purawarga Matada G.S., Maji L. Next-generation cancer therapeutics: PROTACs and the role of heterocyclic warheads in targeting resistance // *Eur. J. Med. Chem.* 2025. – Т. 281. – С. 117034.
3. Gu S., Cui D., Chen X., Xiong X., Zhao Y. PROTACs: An Emerging Targeting Technique for Protein Degradation in Drug Discovery // *BioEssays.* 2018. – Т. 40. – № 4.
4. Bard J.A.M., Goodall E.A., Greene E.R., Jonsson E., Dong K.C., Martin A. Structure and Function of the 26S Proteasome // *Annu. Rev. Biochem.* 2018. – Т. 87. – № 1. – С. 697–724.
5. Yang J., Li Y., Aguilar A., Liu Z., Yang C.-Y., Wang S. Simple Structural Modifications Converting a Bona fide MDM2 PROTAC Degradator into a Molecular Glue Molecule: A Cautionary Tale in the Design of PROTAC Degradators // *J. Med. Chem.* 2019. – Т. 62. – № 21. – С. 9471–9487.
6. Gu S., Cui D., Chen X., Xiong X., Zhao Y. PROTACs: An Emerging Targeting Technique for Protein Degradation in Drug Discovery // *BioEssays.* 2018. – Т. 40. – № 4.
7. Li Y., Yang J., Aguilar A., McEachern D., Przybranowski S., Liu L., Yang C.-Y., Wang M., Han X., Wang S. Discovery of MD-224 as a First-in-Class, Highly Potent, and Efficacious Proteolysis Targeting Chimera Murine Double Minute 2 Degradator Capable of Achieving Complete and Durable Tumor Regression // *J. Med. Chem.* 2019. – Т. 62. – № 2. – С. 448–466.
8. Tseng Y.-L., Lu P.-C., Lee C.-C., He R.-Y., Huang Y.-A., Tseng Y.-C., Cheng T.-J.R., Huang J.J.-T., Fang J.-M. Degradation of neurodegenerative disease-associated TDP-43 aggregates and oligomers via a proteolysis-targeting chimera // *J. Biomed. Sci.* 2023. – Т. 30. – № 1. – С. 27.
9. Zou Y., Ma D., Wang Y. The PROTAC technology in drug development // *Cell Biochem. Funct.* 2019. – Т. 37. – № 1. – С. 21–30.
10. Bouvier C., Lawrence R., Cavallo F., Xolalpa W., Jordan A., Hjerpe R., Rodriguez M.S. Breaking Bad Proteins—Discovery Approaches and the Road to Clinic for Degradators // *Cells.* 2024. – Т. 13. – № 7. – С. 578.

11. Scheepstra M., Hekking K.F.W., van Hijfte L., Folmer R.H.A. Bivalent Ligands for Protein Degradation in Drug Discovery // *Comput. Struct. Biotechnol. J.* 2019. – T. 17. – C. 160–176.
12. Tan L., Gray N.S. When Kinases Meet PROTACs // *Chin. J. Chem.* 2018. – T. 36. – № 10. – C. 971–977.
13. Békés M., Langley D.R., Crews C.M. PROTAC targeted protein degraders: the past is prologue // *Nature Reviews Drug Discovery. Nature Research*, 2022. – T. 21. – № 3. – C. 181–200.
14. Backes A., Zech B., Felber B., Klebl B., Müller G. Small-molecule inhibitors binding to protein kinases. Part I: exceptions from the traditional pharmacophore approach of type I inhibition // *Expert Opin. Drug Discov.* 2008. – T. 3. – № 12. – C. 1409–1425.
15. Zhong L., Li Y., Xiong L., Wang W., Wu M., Yuan T., Yang W., Tian C., Miao Z., Wang T., Yang S. Small molecules in targeted cancer therapy: advances, challenges, and future perspectives // *Signal Transduct. Target. Ther.* 2021. – T. 6. – № 1. – C. 201.
16. He S., Ma J., Fang Y., Liu Y., Wu S., Dong G., Wang W., Sheng C. Homo-PROTAC mediated suicide of MDM2 to treat non-small cell lung cancer // *Acta Pharm. Sin. B.* 2021. – T. 11. – № 6. – C. 1617–1628.
17. He S., Dong G., Sheng C. Strategies for Precise Modulation of Protein Degradation // *Acc. Chem. Res.* 2025. – T. 58. – № 8. – C. 1236–1248.
18. Bemis T.A., La Clair J.J., Burkart M.D. Unraveling the Role of Linker Design in Proteolysis Targeting Chimeras // *J. Med. Chem.* 2021. – T. 64. – № 12. – C. 8042–8052.
19. Ma N., Yang T., Mukhaleva E., Wei W., Vaidehi N. BPS2025 - Innovative strategies in PROTAC design: Evaluating linker efficiency through protein frustration analysis // *Biophys. J.* 2025. – T. 124. – № 3. – C. 390a–391a.
20. Kubryń N., Fijałkowski Ł., Nowaczyk J., Jamil A., Nowaczyk A. PROTAC Technology as a New Tool for Modern Pharmacotherapy // *Molecules.* 2025. – T. 30. – № 10. – C. 2123.
21. Li L., Mi D., Pei H., Duan Q., Wang X., Zhou W., Jin J., Li D., Liu M., Chen Y. In vivo target protein degradation induced by PROTACs based on E3 ligase DCAF15 // *Signal Transduct. Target. Ther.* 2020. – T. 5. – № 1. – C. 129.
22. Kumar H., Sobhia M.E. Interplay of PROTAC Complex Dynamics for Undruggable Targets: Insights into Ternary Complex Behavior and Linker Design // *ACS Med. Chem. Lett.* 2024. – T. 15. – № 8. – C. 1306–1318.

23. Poongavanam V., Peintner S., Abeje Y., Kölling F., Meibom D., Erdelyi M., Kihlberg J. Linker-Determined Folding and Hydrophobic Interactions Explain a Major Difference in PROTAC Cell Permeability // *ACS Med. Chem. Lett.* 2025. – T. 16. – № 4. – C. 681–687.
24. Troup R.I., Fallan C., Baud M.G.J. Current strategies for the design of PROTAC linkers: a critical review // *Explor. Target. Antitumor Ther.* 2020. – T. 1. – № 5. – C. 273–312.
25. Hershko A., Ciechanover A. THE UBIQUITIN SYSTEM // *Annu. Rev. Biochem.* 1998. – T. 67. – № 1. – C. 425–479.
26. Coux O., Tanaka K., Goldberg A.L. STRUCTURE AND FUNCTIONS OF THE 20S AND 26S PROTEASOMES // *Annu. Rev. Biochem.* 1996. – T. 65. – № 1. – C. 801–847.
27. Hershko A., Ciechanover A. THE UBIQUITIN SYSTEM FOR PROTEIN DEGRADATION // *Annu. Rev. Biochem.* 1992. – T. 61. – № 1. – C. 761–807.
28. Ciechanover A. The ubiquitin-proteasome proteolytic pathway // *Cell.* 1994. – T. 79. – № 1. – C. 13–21.
29. Pickart C.M., Eddins M.J. Ubiquitin: structures, functions, mechanisms // *Biochimica et Biophysica Acta (BBA) - Molecular Cell Research.* 2004. – T. 1695. – № 1–3. – C. 55–72.
30. Dye B.T., Schulman B.A. Structural Mechanisms Underlying Posttranslational Modification by Ubiquitin-Like Proteins // *Annu. Rev. Biophys. Biomol. Struct.* 2007. – T. 36. – № 1. – C. 131–150.
31. Finley D. Recognition and Processing of Ubiquitin-Protein Conjugates by the Proteasome // *Annu. Rev. Biochem.* 2009. – T. 78. – № 1. – C. 477–513.
32. Deshaies R.J., Joazeiro C.A.P. RING domain E3 ubiquitin ligases // *Annual Review of Biochemistry.* Annual Reviews Inc., 2009. – T. 78. – C. 399–434.
33. Buetow L., Huang D.T. Structural insights into the catalysis and regulation of E3 ubiquitin ligases // *Nature Reviews Molecular Cell Biology.* Nature Publishing Group, 2016. – T. 17. – № 10. – C. 626–642.
34. Toma-Fukai S., Hibi R., Naganuma T., Sakai M., Saijo S., Shimizu N., Matsumoto M., Shimizu T. Crystal structure of GCN5 PCAF N-terminal domain reveals atypical ubiquitin ligase structure // *Journal of Biological Chemistry.* 2020. – T. 295. – № 43. – C. 14630–14639.
35. Sakamoto K.M., Kim K.B., Kumagai A., Mercurio F., Crews C.M., Deshaies R.J. Protacs: Chimeric molecules that target proteins to the Skp1–Cullin–F box complex for ubiquitination

- and degradation // *Proceedings of the National Academy of Sciences*. 2001. – T. 98. – № 15. – C. 8554–8559.
36. Wu L., Grigoryan A. V., Li Y., Hao B., Pagano M., Cardozo T.J. Specific small molecule inhibitors of skp2-mediated p27 degradation // *Chem. Biol.* 2012. – T. 19. – № 12. – C. 1515–1524.
 37. Galdeano C. Drugging the Undruggable: Targeting Challenging E3 Ligases for Personalized Medicine // *Future Med. Chem.* 2017. – T. 9. – № 4. – C. 347–350.
 38. Arkin M.R., Tang Y., Wells J.A. Small-Molecule Inhibitors of Protein-Protein Interactions: Progressing toward the Reality // *Chem. Biol.* 2014. – T. 21. – № 9. – C. 1102–1114.
 39. Galdeano C., Gadd M.S., Soares P., Scaffidi S., Van Molle I., Birced I., Hewitt S., Dias D.M., Ciulli A. Structure-Guided Design and Optimization of Small Molecules Targeting the Protein–Protein Interaction between the von Hippel–Lindau (VHL) E3 Ubiquitin Ligase and the Hypoxia Inducible Factor (HIF) Alpha Subunit with in Vitro Nanomolar Affinities // *J. Med. Chem.* 2014. – T. 57. – № 20. – C. 8657–8663.
 40. Buckley D.L., Van Molle I., Gareiss P.C., Tae H.S., Michel J., Noblin D.J., Jorgensen W.L., Ciulli A., Crews C.M. Targeting the von Hippel–Lindau E3 Ubiquitin Ligase Using Small Molecules To Disrupt the VHL/HIF-1 α Interaction // *J. Am. Chem. Soc.* 2012. – T. 134. – № 10. – C. 4465–4468.
 41. Buckley D.L., Gustafson J.L., Van Molle I., Roth A.G., Tae H.S., Gareiss P.C., Jorgensen W.L., Ciulli A., Crews C.M. Small-Molecule Inhibitors of the Interaction between the E3 Ligase VHL and HIF1 α // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2012. – T. 51. – № 46. – C. 11463–11467.
 42. Spratt D.E., Walden H., Shaw G.S. RBR E3 ubiquitin ligases: New structures, new insights, new questions // *Biochemical Journal*. 2014. – T. 458. – № 3. – C. 421–437.
 43. Tong B., Luo M., Xie Y., Spradlin J.N., Tallarico J.A., McKenna J.M., Schirle M., Maimone T.J., Nomura D.K. Bardoxolone conjugation enables targeted protein degradation of BRD4 // *Sci. Rep.* 2020. – T. 10. – № 1. – C. 15543.
 44. Ward C.C., Kleinman J.I., Brittain S.M., Lee P.S., Chung C.Y.S., Kim K., Petri Y., Thomas J.R., Tallarico J.A., McKenna J.M., Schirle M., Nomura D.K. Covalent Ligand Screening Uncovers a RNF4 E3 Ligase Recruiter for Targeted Protein Degradation Applications // *ACS Chem. Biol.* 2019. – T. 14. – № 11. – C. 2430–2440.

45. Itoh Y., Ishikawa M., Naito M., Hashimoto Y. Protein Knockdown Using Methyl Bestatin–Ligand Hybrid Molecules: Design and Synthesis of Inducers of Ubiquitination-Mediated Degradation of Cellular Retinoic Acid-Binding Proteins // *J. Am. Chem. Soc.* 2010. – T. 132. – № 16. – C. 5820–5826.
46. Schneekloth A.R., Pucheault M., Tae H.S., Crews C.M. Targeted intracellular protein degradation induced by a small molecule: En route to chemical proteomics // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2008. – T. 18. – № 22. – C. 5904–5908.
47. Ishida T., Ciulli A. E3 Ligase Ligands for PROTACs: How They Were Found and How to Discover New Ones // *SLAS Discovery.* 2021. – T. 26. – № 4. – C. 484–502.
48. Ito T., Ando H., Suzuki T., Ogura T., Hotta K., Imamura Y., Yamaguchi Y., Handa H. Identification of a Primary Target of Thalidomide Teratogenicity // *Science (1979).* 2010. – T. 327. – № 5971. – C. 1345–1350.
49. Angers S., Li T., Yi X., MacCoss M.J., Moon R.T., Zheng N. Molecular architecture and assembly of the DDB1–CUL4A ubiquitin ligase machinery // *Nature.* 2006. – T. 443. – № 7111. – C. 590–593.
50. Ottis P., Toure M., Cromm P.M., Ko E., Gustafson J.L., Crews C.M. Assessing Different E3 Ligases for Small Molecule Induced Protein Ubiquitination and Degradation // *ACS Chem. Biol.* American Chemical Society, 2017. – T. 12. – № 10. – C. 2570–2578.
51. Petzold G., Fischer E.S., Thomä N.H. Structural basis of lenalidomide-induced CK1 α degradation by the CRL4CRBN ubiquitin ligase // *Nature.* 2016. – T. 532. – № 7597. – C. 127–130.
52. A novel cereblon modulator recruits GSPT1 to the CRL4CRBN ubiquitin ligase // *Nature.* 2016. – T. 535. – № 7611. – C. 252–257.
53. Winter G.E., Buckley D.L., Paulk J., Roberts J.M., Souza A., Dhe-Paganon S., Bradner J.E. Phthalimide conjugation as a strategy for in vivo target protein degradation // *Science (1979).* 2015. – T. 348. – № 6241. – C. 1376–1381.
54. Lu J., Qian Y., Altieri M., Dong H., Wang J., Raina K., Hines J., Winkler J.D., Crew A.P., Coleman K., Crews C.M. Hijacking the E3 Ubiquitin Ligase Cereblon to Efficiently Target BRD4 // *Chem. Biol.* 2015. – T. 22. – № 6. – C. 755–763.
55. Myung J., Kim K.B., Crews C.M. The ubiquitin-proteasome pathway and proteasome inhibitors // *Med. Res. Rev.* 2001. – T. 21. – № 4. – C. 245–273.

56. Fang S., Weissman A.M. Ubiquitin-proteasome system // Cellular and Molecular Life Sciences. 2004. – T. 61. – № 13. – C. 1546–1561.
57. Shang F., Taylor A. Ubiquitin–proteasome pathway and cellular responses to oxidative stress // Free Radic. Biol. Med. 2011. – T. 51. – № 1. – C. 5–16.
58. Goldberg A.L. Functions of the proteasome: from protein degradation and immune surveillance to cancer therapy // Biochem. Soc. Trans. 2007. – T. 35. – № 1. – C. 12–17.
59. Soares P., Gadd M.S., Frost J., Galdeano C., Ellis L., Epemolu O., Rocha S., Read K.D., Ciulli A. Group-Based Optimization of Potent and Cell-Active Inhibitors of the von Hippel–Lindau (VHL) E3 Ubiquitin Ligase: Structure–Activity Relationships Leading to the Chemical Probe (2*S*,4*R*)-1-((*S*)-2-(1-Cyanocyclopropanecarboxamido)-3,3-dimethylbutanoyl)-4-hydroxy-*N*-(4-(4-methylthiazol-5-yl)benzyl)pyrrolidine-2-carboxamide (VH298) // J. Med. Chem. 2018. – T. 61. – № 2. – C. 599–618.
60. Discovery of Potent and Orally Bioavailable Macrocyclic Peptide–Peptoid Hybrid CXCR7 Modulators // J. Med. Chem. 2017. – T. 60. – № 23. – C. 9653–9663.
61. Maniaci C., Hughes S.J., Testa A., Chen W., Lamont D.J., Rocha S., Alessi D.R., Romeo R., Ciulli A. Homo-PROTACs: bivalent small-molecule dimerizers of the VHL E3 ubiquitin ligase to induce self-degradation // Nat. Commun. 2017. – T. 8. – № 1. – C. 830.
62. Powell C.E., Du G., Bushman J.W., He Z., Zhang T., Fischer E.S., Gray N.S. Selective degradation-inducing probes for studying cereblon (CRBN) biology // RSC Med. Chem. 2021. – T. 12. – № 8. – C. 1381–1390.
63. Kim K., Lee D.H., Park S., Jo S.-H., Ku B., Park S.G., Park B.C., Jeon Y.U., Ahn S., Kang C.H., Hwang D., Chae S., Ha J. Du, Kim S., Hwang J.Y., Kim J.-H. Disordered region of cereblon is required for efficient degradation by proteolysis-targeting chimera // Sci. Rep. 2019. – T. 9. – № 1. – C. 19654.
64. Girardini M., Maniaci C., Hughes S.J., Testa A., Ciulli A. Cereblon versus VHL: Hijacking E3 ligases against each other using PROTACs // Bioorg. Med. Chem. 2019. – T. 27. – № 12. – C. 2466–2479.
65. Krasavin M., Adamchik M., Bubyrev A., Heim C., Maiwald S., Zhukovsky D., Zhmurov P., Bunev A., Hartmann M.D. Synthesis of novel glutarimide ligands for the E3 ligase substrate receptor Cereblon (CRBN): Investigation of their binding mode and antiproliferative effects

- against myeloma cell lines // *Eur. J. Med. Chem. Elsevier Masson SAS*, 2023. – T. 246. – № August 2022. – C. 114990.
66. Khuzhakhmetova L.R., Ananeva A.A., Kantin G.P., Dar'in D.V., Bunev A.S., Ebeling S., Herrmann A., Hartmann M.D., Kalinin S.A., Bakulina O.Y. Synthesis of α -(azidomethyl)glutarimide and its application in construction of potential Cereblon ligands via the CuAAC reaction // *Mendeleev Communications*. 2025. – T. 35. – № 1. – C. 69–72.
67. Ciulli A., O'Connor S., Chung C., Hartung I. V., Testa A., Daniels D.L., Heitman L.H. The 17th EFMC Short Course on Medicinal Chemistry on Small Molecule Protein Degraders // *ChemMedChem*. 2023. – T. 18. – № 20.
68. Salami J., Alabi S., Willard R.R., Vitale N.J., Wang J., Dong H., Jin M., McDonnell D.P., Crew A.P., Neklesa T.K., Crews C.M. Androgen receptor degradation by the proteolysis-targeting chimera ARCC-4 outperforms enzalutamide in cellular models of prostate cancer drug resistance // *Commun. Biol.* 2018. – T. 1. – № 1. – C. 100.
69. Han X., Sun Y. Strategies for the discovery of oral PROTAC degraders aimed at cancer therapy // *Cell Rep. Phys. Sci.* 2022. – T. 3. – № 10. – C. 101062.
70. Hornberger K.R., Araujo E.M. V. Physicochemical Property Determinants of Oral Absorption for PROTAC Protein Degraders // *J. Med. Chem.* 2023. – T. 66. – № 12. – C. 8281–8287.
71. Apprato G., Poongavanam V., Garcia Jimenez D., Atilaw Y., Erdelyi M., Ermondi G., Caron G., Kihlberg J. Exploring the chemical space of orally bioavailable PROTACs // *Drug Discov. Today*. 2024. – T. 29. – № 4. – C. 103917.
72. Pike A., Williamson B., Harlfinger S., Martin S., McGinnity D.F. Optimising proteolysis-targeting chimeras (PROTACs) for oral drug delivery: a drug metabolism and pharmacokinetics perspective // *Drug Discov. Today*. 2020. – T. 25. – № 10. – C. 1793–1800.
73. Vetma V., O'Connor S., Ciulli A. Development of PROTAC Degradation Drugs for Cancer // *Annu. Rev. Cancer Biol.* 2025. – T. 9. – № 1. – C. 119–140.
74. Lue J.K., Stevens D.A., Williams M.E., Westin J., Ewesuedo R., McDonald A., Agarwal S., Henrick P., Perea R., Gollob J. Phase 1 Study of KT-413, a Targeted Protein Degradation of IRAK4 and IMiD Substrates, in Adult Patients with Relapsed or Refractory B-Cell Non-Hodgkin Lymphoma // *Blood*. 2022. – T. 140. – № Supplement 1. – C. 12143–12144.
75. Jarusiewicz J.A., Yoshimura S., Mayasundari A., Actis M., Aggarwal A., McGowan K., Yang L., Li Y., Fu X., Mishra V., Heath R., Narina S., Pruett-Miller S.M., Nishiguchi G., Yang J.J.,

- Rankovic Z. Phenyl Dihydrouracil: An Alternative Cereblon Binder for PROTAC Design // *ACS Med. Chem. Lett.* 2023. – T. 14. – № 2. – C. 141–145.
76. Phenyl-Glutarimides: Alternative Cereblon Binders for the Design of PROTACs // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2021. – T. 60. – № 51. – C. 26663–26670.
77. Correction to “Design and Synthesis of Novel Cereblon Binders for Use in Targeted Protein Degradation” // *J. Med. Chem.* 2024. – T. 67. – № 16. – C. 14692–14692.
78. Design and Synthesis of Novel Cereblon Binders for Use in Targeted Protein Degradation // *J. Med. Chem.* 2023. – T. 66. – № 23. – C. 16388–16409.
79. Siegel R.L., Giaquinto A.N., Jemal A. Cancer statistics, 2024 // *CA Cancer J. Clin.* 2024. – T. 74. – № 1. – C. 12–49.
80. Scher H.I., Sawyers C.L. Biology of Progressive, Castration-Resistant Prostate Cancer: Directed Therapies Targeting the Androgen-Receptor Signaling Axis // *Journal of Clinical Oncology.* 2005. – T. 23. – № 32. – C. 8253–8261.
81. Ha S., Luo G., Xiang H. A Comprehensive Overview of Small-Molecule Androgen Receptor Degraders: Recent Progress and Future Perspectives // *J. Med. Chem.* 2022. – T. 65. – № 24. – C. 16128–16154.
82. Safety and clinical activity of BMS-986365 (CC-94676), a dual androgen receptor ligand-directed degrader and antagonist, in heavily pretreated patients with metastatic castration-resistant prostate cancer // *Annals of Oncology.* 2025. – T. 36. – № 1. – C. 76–88.
83. Clusan L., Ferrière F., Flouriot G., Pakdel F. A Basic Review on Estrogen Receptor Signaling Pathways in Breast Cancer // *Int. J. Mol. Sci.* 2023. – T. 24. – № 7. – C. 6834.
84. Nathan M.R., Schmid P. A Review of Fulvestrant in Breast Cancer // *Oncol. Ther.* 2017. – T. 5. – № 1. – C. 17–29.
85. Howell A., Howell S.J. Tamoxifen evolution // *Br. J. Cancer.* 2023. – T. 128. – № 3. – C. 421–425.
86. Pancholi S., Simigdala N., Ribas R., Schuster E., Leal M.F., Nikitorowicz-Buniak J., Rega C., Bihani T., Patel H., Johnston S.R., Dowsett M., Martin L.-A. Elacestrant demonstrates strong anti-estrogenic activity in PDX models of estrogen-receptor positive endocrine-resistant and fulvestrant-resistant breast cancer // *NPJ Breast Cancer.* 2022. – T. 8. – № 1. – C. 125.

87. Conlan M.G., de Vries E.F.J., Glaudemans A., Wang Y., Troy S. Pharmacokinetic and Pharmacodynamic Studies of Elacestrant, A Novel Oral Selective Estrogen Receptor Degradar, in Healthy Post-Menopausal Women // *Eur. J. Drug Metab. Pharmacokinet.* 2020. – T. 45. – № 5. – C. 675–689.
88. Min J., Liu X., Peng R., Chen C.-C., Wang W., Guo R.-T. New generation estrogen receptor-targeted agents in breast cancer: present situation and future perspectives // *Acta Materia Medica.* 2024. – T. 3. – № 1. – C. 57–71.
89. Oral Estrogen Receptor PROTAC Vepdegestrant (ARV-471) Is Highly Efficacious as Monotherapy and in Combination with CDK4/6 or PI3K/mTOR Pathway Inhibitors in Preclinical ER+ Breast Cancer Models // *Clinical Cancer Research.* 2024. – T. 30. – № 16. – C. 3549–3563.
90. Jager A., de Vries E.G.E., der Houven van Oordt C.W.M., Neven P., Venema C.M., Glaudemans A.W.J.M., Wang Y., Bagley R.G., Conlan M.G., Aftimos P. A phase 1b study evaluating the effect of elacestrant treatment on estrogen receptor availability and estradiol binding to the estrogen receptor in metastatic breast cancer lesions using 18F-FES PET/CT imaging // *Breast Cancer Research.* 2020. – T. 22. – № 1. – C. 97.
91. Gaballa S., Pinilla-Ibarz J. BTK Inhibitors in Chronic Lymphocytic Leukemia // *Curr. Hematol. Malig. Rep.* 2021. – T. 16. – № 5. – C. 422–432.
92. Mechanisms of Resistance to Noncovalent Bruton’s Tyrosine Kinase Inhibitors // *New England Journal of Medicine.* 2022. – T. 386. – № 8. – C. 735–743.
93. Buhimschi A.D., Armstrong H.A., Toure M., Jaime-Figueroa S., Chen T.L., Lehman A.M., Woyach J.A., Johnson A.J., Byrd J.C., Crews C.M. Targeting the C481S Ibrutinib-Resistance Mutation in Bruton’s Tyrosine Kinase Using PROTAC-Mediated Degradation // *Biochemistry.* 2018. – T. 57. – № 26. – C. 3564–3575.
94. Discovery and Preclinical Pharmacology of NX-2127, an Orally Bioavailable Degradar of Bruton’s Tyrosine Kinase with Immunomodulatory Activity for the Treatment of Patients with B Cell Malignancies // *J. Med. Chem.* 2024. – T. 67. – № 4. – C. 2321–2336.
95. Kinase-impaired BTK mutations are susceptible to clinical-stage BTK and IKZF1/3 degrader NX-2127 // *Science (1979).* 2024. – T. 383. – № 6682.
96. Seymour J.F., Cheah C.Y., Parrondo R., Thompson M.C., Stevens D.A., Lasica M., Wang M.L., Kumar A., Trotman J., Alwan M., Ding W., By K., Tariq B., Chen X., Fabre S., Paik J., Agarwal

- A., Tam C.S. First Results from a Phase 1, First-in-Human Study of the Bruton's Tyrosine Kinase (BTK) Degraders BGB-16673 in Patients (Pts) with Relapsed or Refractory (R/R) B-Cell Malignancies (BGB-16673-101) // *Blood*. 2023. – T. 142. – № Supplement 1. – C. 4401–4401.
97. Abstract 7003: NX-5948 is a CNS-penetrant catalytic Bruton's tyrosine kinase (BTK) degrader that breaks established design rules for CNS drugs // *Cancer Res*. 2025. – T. 85. – № 8_Supplement_1. – C. 7003–7003.
98. Mohamad Anuar N.N., Nor Hisam N.S., Liew S.L., Uguzman A. Clinical Review: Navitoclax as a Pro-Apoptotic and Anti-Fibrotic Agent // *Front. Pharmacol*. 2020. – T. 11. – C. 564108.
99. A selective BCL-XL PROTAC degrader achieves safe and potent antitumor activity // *Nat. Med*. 2019. – T. 25. – № 12. – C. 1938–1947.
100. Josefsson E.C., Vainchenker W., James C. Regulation of Platelet Production and Life Span: Role of Bcl-xL and Potential Implications for Human Platelet Diseases // *Int. J. Mol. Sci*. 2020. – T. 21. – № 20. – C. 7591.
101. Jaiswal A., Jaiswal A., Williamson E.A., Gelfond J., Zheng G., Zhou D., Hromas R. Resistance to the BCL-XL degrader DT2216 in T-cell acute lymphoblastic leukemia is rare and correlates with decreased BCL-XL proteolysis // *Cancer Chemother. Pharmacol*. 2023. – T. 91. – № 1. – C. 89–95.
102. Susanibar-Adaniya S., Barta S.K. 2021 Update on Diffuse large B cell lymphoma: A review of current data and potential applications on risk stratification and management // *Am. J. Hematol*. 2021. – T. 96. – № 5. – C. 617–629.
103. McLachlan T., Matthews W.C., Jackson E.R., Staudt D.E., Douglas A.M., Findlay I.J., Persson M.L., Duchatel R.J., Mannan A., Germon Z.P., Dun M.D. B-cell Lymphoma 6 (BCL6): From Master Regulator of Humoral Immunity to Oncogenic Driver in Pediatric Cancers // *Molecular Cancer Research*. 2022. – T. 20. – № 12. – C. 1711–1723.
104. Achieving *In Vivo* Target Depletion through the Discovery and Optimization of Benzimidazolone BCL6 Degradors // *J. Med. Chem*. 2020. – T. 63. – № 8. – C. 4047–4068.
105. Sherman D. Abstract ND05: The discovery of ARV-393, a potent, orally bioavailable BCL6 targeting PROTAC® for the treatment of Non-Hodgkin's Lymphoma // *Cancer Res*. 2024. – T. 84. – № 7_Supplement. – C. ND05–ND05.
106. BMS-986458 a Potential First-in-Class, Highly Selective, Potent and Well Tolerated BCL6 Ligand Directed Degradator (LDD) Demonstrates Multi-Modal Anti-Tumor Efficacy for the

- Treatment of B-Cell Non-Hodgkin's Lymphoma // *Blood*. 2024. – T. 144. – № Supplement 1. – C. 957–957.
107. Bennett J., Starczynowski D.T. IRAK1 and IRAK4 as emerging therapeutic targets in hematologic malignancies // *Curr. Opin. Hematol.* 2022. – T. 29. – № 1. – C. 8–19.
108. Discovery of IRAK4 Inhibitors **BAY1834845** (Zabedoseritib) and **BAY1830839** // *J. Med. Chem.* 2024. – T. 67. – № 2. – C. 1225–1242.
109. Gazendam A.M., Popovic S., Munir S., Parasu N., Wilson D., Ghert M. Synovial Sarcoma: A Clinical Review // *Current Oncology*. 2021. – T. 28. – № 3. – C. 1909–1920.
110. A non-canonical SWI/SNF complex is a synthetic lethal target in cancers driven by BAF complex perturbation // *Nat. Cell Biol.* 2018. – T. 20. – № 12. – C. 1410–1420.
111. Zoppi V., Hughes S.J., Maniaci C., Testa A., Gmaschitz T., Wieshofer C., Koegl M., Riching K.M., Daniels D.L., Spallarossa A., Ciulli A. Iterative Design and Optimization of Initially Inactive Proteolysis Targeting Chimeras (PROTACs) Identify VZ185 as a Potent, Fast, and Selective von Hippel–Lindau (VHL) Based Dual Degradable Probe of BRD9 and BRD7 // *J. Med. Chem.* 2019. – T. 62. – № 2. – C. 699–726.
112. A Phase I Study of FHD-609, a Heterobifunctional Degradable of Bromodomain-Containing Protein 9, in Patients with Advanced Synovial Sarcoma or SMARCB1-Deficient Tumors // *Clinical Cancer Research*. 2025. – T. 31. – № 4. – C. 628–638.
113. Poling L.L., Coccoziello D., He M., Hurh E., Lobbardi R., Jackson K.L., Fisher S.L., Pollock R.M. CFT8634, a Clinical Stage BRD9 Bi DACTM Degradable, Is Active in a Subset of Multiple Myeloma Cell Line Models and Synergistic When Combined with Pomalidomide // *Blood*. 2023. – T. 142. – № Supplement 1. – C. 6594–6594.
114. Discovery of CFT8634, a Potent, Selective, and Orally Bioavailable Heterobifunctional Degradable of BRD9 // *J. Med. Chem.* 2025. – T. 68. – № 23. – C. 24848–24868.
115. Hu Y., Dong Z., Liu K. Unraveling the complexity of STAT3 in cancer: molecular understanding and drug discovery // *Journal of Experimental & Clinical Cancer Research*. 2024. – T. 43. – № 1. – C. 23.
116. Starodub A., Gollerkeri A., De savi C., Dey J., Agarwal S., Donohue S., Perea R., Klaus C., Gollob J. Phase 1 study of KT-333, a targeted protein degrader, in patients with relapsed or refractory lymphomas, large granular lymphocytic leukemia, and solid tumors. // *Journal of Clinical Oncology*. 2022. – T. 40. – № 16_suppl. – C. TPS3171–TPS3171.

117. Marei H.E., Althani A., Afifi N., Hasan A., Caceci T., Pozzoli G., Morrione A., Giordano A., Cenciarelli C. p53 signaling in cancer progression and therapy // *Cancer Cell Int.* 2021. – T. 21. – № 1. – C. 703.
118. Wu X., Bayle J.H., Olson D., Levine A.J. The p53-mdm-2 autoregulatory feedback loop. // *Genes Dev.* 1993. – T. 7. – № 7a. – C. 1126–1132.
119. Li H., Cai X., Yang X., Zhang X. An overview of PROTACs targeting MDM2 as a novel approach for cancer therapy // *Eur. J. Med. Chem.* 2024. – T. 272. – C. 116506.
120. Safety, pharmacokinetics (PK), pharmacodynamics (PD) and efficacy of KT-253, a targeted protein degrader of MDM2, in patients with relapsed/refractory (R/R) solid tumors, lymphoma, high grade myeloid malignancies and acute lymphoblastic leukemia (ALL). // *Journal of Clinical Oncology.* 2024. – T. 42. – № 16_suppl. – C. 3084–3084.
121. Varga J., Kube M., Luck K., Schick S. The BAF chromatin remodeling complexes: structure, function, and synthetic lethality // *Biochem. Soc. Trans.* 2021. – T. 49. – № 4. – C. 1489–1503.
122. Discovery of Orally Active Inhibitors of Brahma Homolog (BRM)/SMARCA2 ATPase Activity for the Treatment of Brahma Related Gene 1 (BRG1)/SMARCA4-Mutant Cancers // *J. Med. Chem.* 2018. – T. 61. – № 22. – C. 10155–10172.
123. BAF complex vulnerabilities in cancer demonstrated via structure-based PROTAC design // *Nat. Chem. Biol.* 2019. – T. 15. – № 7. – C. 672–680.
124. A selective and orally bioavailable VHL-recruiting PROTAC achieves SMARCA2 degradation *in vivo* // *Nat. Commun.* 2022. – T. 13. – № 1. – C. 5969.
125. Selective PROTAC-mediated degradation of SMARCA2 is efficacious in SMARCA4 mutant cancers // *Nat. Commun.* 2022. – T. 13. – № 1. – C. 6814.
126. Targeting SWI/SNF ATPases in enhancer-addicted prostate cancer // *Nature.* 2022. – T. 601. – № 7893. – C. 434–439.
127. Yang L., Tu W., Huang L., Miao B., Kaneshige A., Jiang W., Leng L., Wang M., Wen B., Sun D., Wang S. Discovery of SMD-3040 as a Potent and Selective SMARCA2 PROTAC Degradator with Strong *in vivo* Antitumor Activity // *J. Med. Chem.* 2023. – T. 66. – № 15. – C. 10761–10781.
128. Yap T.A., Gutierrez M., Iams W.T., Moreno V., Hernandez Guerrero T., Alonso G., Gomez-Roca C.A., Postel-Vinay S., Acker F., Minchom A.R., Leigh N.B., Novotny W.F., Tankersley C.,

- Henry M., Ro S., Chisamore M.J., Bridgewater J. A phase 2 safety and efficacy study of PRT3789 in combination with pembrolizumab in patients with advanced or metastatic solid tumors and a *SMARCA4* mutation. // *Journal of Clinical Oncology*. 2025. – T. 43. – C. TPS8667.
129. Braicu C., Buse M., Busuioc C., Drula R., Gulei D., Raduly L., Rusu A., Irimie A., Atanasov A.G., Slaby O., Ionescu C., Berindan-Neagoe I. A Comprehensive Review on MAPK: A Promising Therapeutic Target in Cancer // *Cancers (Basel)*. 2019. – T. 11. – № 10. – C. 1618.
130. Dhillon S. Adagrasib: First Approval // *Drugs*. 2023. – T. 83. – № 3. – C. 275–285.
131. Liu J., Chen H., Liu Y., Shen Y., Meng F., Kaniskan H.Ü., Jin J., Wei W. Cancer Selective Target Degradation by Folate-Caged PROTACs // *J. Am. Chem. Soc.* 2021. – T. 143. – № 19. – C. 7380–7387.
132. Mullard A. Glue-based KRAS inhibitors make their debut cancer trial mark // *Nat. Rev. Drug Discov.* 2023. – T. 22. – № 12. – C. 942–942.
133. Xu Y., Bai Y., Li R., Peng Y., Liu T., Yang X., Chen K., Jin Z., Liu H., Yuan S. A Comprehensive Review of Marketed KRAS Inhibitors and Degraders: Challenges and Opportunities // *Med. Res. Rev.* 2026. – C. e70035.
134. Targeting cancer with small-molecule pan-KRAS degraders // *Science (1979)*. 2024. – T. 385. – № 6715. – C. 1338–1347.
135. Alabi S., Jaime-Figueroa S., Yao Z., Gao Y., Hines J., Samarasinghe K.T.G., Vogt L., Rosen N., Crews C.M. Mutant-selective degradation by BRAF-targeting PROTACs // *Nat. Commun.* 2021. – T. 12. – № 1. – C. 920.
136. Hanrahan A.J., Chen Z., Rosen N., Solit D.B. BRAF — a tumour-agnostic drug target with lineage-specific dependencies // *Nat. Rev. Clin. Oncol.* 2024. – T. 21. – № 3. – C. 224–247.
137. Kreger B., Stephenson J.R., Sowa M.E., Perino S.A., Poling L.L., Hurh E., Thomenius M.J., Liang Y., Fisher S.L., Pollock R.M. Abstract 1658: CFT1946, a potent, selective BRAF V600X mutant-specific degrader demonstrates superior activity as a single agent to clinically approved BRAF inhibitors and standard of care combinations in preclinical models of BRAF V600X melanoma, CRC, NSCLC, and brain metastasis // *Cancer Res.* 2024. – T. 84. – № 6_Supplement. – C. 1658–1658.
138. CFT1946 Is an Orally Available Brain-Penetrant BRAFV600-Mutant Degradar That Overcomes BRAF Inhibitor Resistance // *Cancer Res.* 2026. – T. 86. – № 2. – C. 438–452.

139. Jain J., Jain S.K., Walker L.A., Tekwani B.L. Inhibitors of ubiquitin E3 ligase as potential new antimalarial drug leads // *BMC Pharmacol. Toxicol.* 2017. – T. 18. – № 1. – C. 40.
140. Senft D., Qi J., Ronai Z.A. Ubiquitin ligases in oncogenic transformation and cancer therapy // *Nat. Rev. Cancer.* 2018. – T. 18. – № 2. – C. 69–88.
141. Louie R.J., Padró M., Giaccia A.J., Chan D.A. Small Molecules Targeting the VHL/Hypoxic Phenotype. 2014. – C. 253–264.
142. Rabinowitz M.H. Inhibition of Hypoxia-Inducible Factor Prolyl Hydroxylase Domain Oxygen Sensors: Tricking the Body into Mounting Orchestrated Survival and Repair Responses // *J. Med. Chem.* 2013. – T. 56. – № 23. – C. 9369–9402.
143. Haase V. The VHL Tumor Suppressor: Master Regulator of HIF // *Curr. Pharm. Des.* 2009. – T. 15. – № 33. – C. 3895–3903.
144. Maniaci C., Hughes S.J., Testa A., Chen W., Lamont D.J., Rocha S., Alessi D.R., Romeo R., Ciulli A. Homo-PROTACs: bivalent small-molecule dimerizers of the VHL E3 ubiquitin ligase to induce self-degradation // *Nat. Commun.* 2017. – T. 8. – № 1. – C. 830.
145. Frost J., Galdeano C., Soares P., Gadd M.S., Grzes K.M., Ellis L., Epemolu O., Shimamura S., Bantscheff M., Grandi P., Read K.D., Cantrell D.A., Rocha S., Ciulli A. Potent and selective chemical probe of hypoxic signalling downstream of HIF- α hydroxylation via VHL inhibition // *Nat. Commun.* 2016. – T. 7. – № 1. – C. 13312.
146. Buckley D.L., Gustafson J.L., Van Molle I., Roth A.G., Tae H.S., Gareiss P.C., Jorgensen W.L., Ciulli A., Crews C.M. Small-Molecule Inhibitors of the Interaction between the E3 Ligase VHL and HIF1 α // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2012. – T. 51. – № 46. – C. 11463–11467.
147. Girardini M., Maniaci C., Hughes S.J., Testa A., Ciulli A. Cereblon versus VHL: Hijacking E3 ligases against each other using PROTACs // *Bioorg. Med. Chem.* 2019. – T. 27. – № 12. – C. 2466–2479.
148. Steinebach C., Lindner S., Udeshi N.D., Mani D.C., Kehm H., Köpff S., Carr S.A., Gütschow M., Krönke J. Homo-PROTACs for the Chemical Knockdown of Cereblon // *ACS Chem. Biol.* 2018. – T. 13. – № 9. – C. 2771–2782.
149. Cereblon is a direct protein target for immunomodulatory and antiproliferative activities of lenalidomide and pomalidomide // *Leukemia.* 2012. – T. 26. – № 11. – C. 2326–2335.

150. Structure of the DDB1–CRBN E3 ubiquitin ligase in complex with thalidomide // *Nature*. 2014. – T. 512. – № 7512. – C. 49–53.
151. Gadd M.S., Testa A., Lucas X., Chan K.-H., Chen W., Lamont D.J., Zengerle M., Ciulli A. Structural basis of PROTAC cooperative recognition for selective protein degradation // *Nat. Chem. Biol.* 2017. – T. 13. – № 5. – C. 514–521.
152. He S., Dong G., Cheng J., Wu Y., Sheng C. Strategies for designing proteolysis targeting chimaeras (PROTACs) // *Medicinal Research Reviews*. John Wiley and Sons Inc, 2022. – T. 42. – № 3. – C. 1280–1342.
153. He S., Ma J., Fang Y., Liu Y., Wu S., Dong G., Wang W., Sheng C. Homo-PROTAC mediated suicide of MDM2 to treat non-small cell lung cancer // *Acta Pharm. Sin. B*. 2021. – T. 11. – № 6. – C. 1617–1628.
154. Momand J., Zambetti G.P., Olson D.C., George D., Levine A.J. The mdm-2 oncogene product forms a complex with the p53 protein and inhibits p53-mediated transactivation // *Cell*. 1992. – T. 69. – № 7. – C. 1237–1245.
155. Altowyan M.S., Soliman S.M., Haukka M., Al-Shaalan N.H., Alkharboush A.A., Barakat A. Synthesis, Characterization, and Cytotoxicity of New Spirooxindoles Engrafted Furan Structural Motif as a Potential Anticancer Agent // *ACS Omega*. American Chemical Society, 2022. – T. 7. – № 40. – C. 35743–35754.
156. Jossang A., Jossang P., Hadi H.A., Sevenet T., Bodo B. Horsfiline, an oxindole alkaloid from *Horsfieldia superba* // *J. Org. Chem.* 1991. – T. 56. – № 23. – C. 6527–6530.
157. Lakshmaiah G., Kawabata T., Shang M., Fuji K. Total Synthesis of (–)-Horsfiline via Asymmetric Nitroolefination // *J. Org. Chem.* 1999. – T. 64. – № 5. – C. 1699–1704.
158. Yu Q., Guo P., Jian J., Chen Y., Xu J. Nine-step total synthesis of (–)-strychnofoline // *Chemical Communications*. 2018. – T. 54. – № 9. – C. 1125–1128.
159. Lerchner A., Carreira E.M. First Total Synthesis of (±)-Strychnofoline via a Highly Selective Ring-Expansion Reaction // *J. Am. Chem. Soc.* 2002. – T. 124. – № 50. – C. 14826–14827.
160. Borthwick A.D. 2,5-Diketopiperazines: Synthesis, Reactions, Medicinal Chemistry, and Bioactive Natural Products // *Chem. Rev.* 2012. – T. 112. – № 7. – C. 3641–3716.

161. Edmondson S., Danishefsky S.J., Sepp-Lorenzino L., Rosen N. Total Synthesis of Spirotryprostatin A, Leading to the Discovery of Some Biologically Promising Analogues // *J. Am. Chem. Soc.* 1999. – T. 121. – № 10. – C. 2147–2155.
162. Spiroindolones, a Potent Compound Class for the Treatment of Malaria // *Science* (1979). 2010. – T. 329. – № 5996. – C. 1175–1180.
163. Al-Tawfiq J.A. Viral loads of SARS-CoV, MERS-CoV and SARS-CoV-2 in respiratory specimens: What have we learned? // *Travel Med. Infect. Dis.* 2020. – T. 34. – C. 101629.
164. Soupart A., Gross P., Legros J.-J., Alfo[Combining Diaeresis]ldi S.A.A., Annane D., Heshmati H.M., Decaux G. Successful Long-Term Treatment of Hyponatremia in Syndrome of Inappropriate Antidiuretic Hormone Secretion with Satavaptan (SR121463B), an Orally Active Nonpeptide Vasopressin V2-Receptor Antagonist // *Clinical Journal of the American Society of Nephrology.* 2006. – T. 1. – № 6. – C. 1154–1160.
165. Ginès P., Wong F., Watson H., Milutinovic S., Ruiz del Arbol L., Olteanu D. Effects of satavaptan, a selective vasopressin V2 receptor antagonist, on ascites and serum sodium in cirrhosis with hyponatremia // *Hepatology.* 2008. – T. 48. – № 1. – C. 204–213.
166. Girgis A.S., Zhao Y., Nkosi A., Ismail N.S.M., Bekheit M.S., Aboshouk D.R., Aziz M.N., Youssef M.A., Panda S.S. The Therapeutic Potential of Spirooxindoles in Cancer: A Focus on p53–MDM2 Modulation // *Pharmaceuticals. Multidisciplinary Digital Publishing Institute (MDPI),* 2025. – T. 18. – № 2. – C. 274.
167. Levine A.J. p53, the Cellular Gatekeeper for Growth and Division // *Cell.* 1997. – T. 88. – № 3. – C. 323–331.
168. Mihara M., Erster S., Zaika A., Petrenko O., Chittenden T., Pancoska P., Moll U.M. p53 Has a Direct Apoptogenic Role at the Mitochondria // *Mol. Cell.* 2003. – T. 11. – № 3. – C. 577–590.
169. Yu B., Liu H.-M. The Development of New Spirooxindoles Targeting the p53–MDM2 Protein-Protein Interactions for Cancer Therapy // *Targeting Protein-Protein Interactions by Small Molecules.* Singapore: Springer Singapore, 2018. – C. 213–237.
170. Zhu H., Gao H., Ji Y., Zhou Q., Du Z., Tian L., Jiang Y., Yao K., Zhou Z. Targeting p53–MDM2 interaction by small-molecule inhibitors: learning from MDM2 inhibitors in clinical trials // *Journal of Hematology and Oncology.* BioMed Central Ltd, 2022. – T. 15. – № 1.
171. Bora D., Kaushal A., Shankaraiah N. Anticancer potential of spirocompounds in medicinal chemistry: A pentennial expedition // *Eur. J. Med. Chem.* 2021. – T. 215. – C. 113263.

172. Arnhold V., Schmelz K., Proba J., Winkler A., Wünschel J., Toedling J., Deubzer H.E., Künkele A., Eggert A., Schulte J.H., Hundsdoerfer P. Reactivating TP53 signaling by the novel MDM2 inhibitor DS-3032b as a therapeutic option for high-risk neuroblastoma // *Oncotarget*. 2018. – T. 9. – № 2. – C. 2304–2319.
173. Khatri Rajeev. *In-Depth Advanced Organic Chemistry*. Educohack Press, 2025.
174. APC/PIK3CA mutations and β -catenin status predict tankyrase inhibitor sensitivity of patient-derived colorectal cancer cells // *Br. J. Cancer*. 2024. – T. 130. – № 1. – C. 151–162.
175. Beloglazkina A., Barashkin A., Polyakov V., Kotovsky G., Karpov N., Mefedova S., Zagribelny B., Ivanenkov Y., Kalinina M., Skvortsov D., Tafeenko V., Zyk N., Majouga A., Beloglazkina E. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Dispiro Compounds based on 5-Arylidenehydantoins and Isatins as Inhibitors of p53–MDM2 Protein–Protein Interaction // *Chem. Heterocycl. Compd. (N. Y.)*. 2020. – T. 56. – № 6. – C. 747–755.
176. Beloglazkina A.A., Karpov N.A., Mefedova S.R., Polyakov V.S., Skvortsov D.A., Kalinina M.A., Tafeenko V.A., Majouga A.G., Zyk N. V., Beloglazkina E.K. Synthesis of dispirooxindoles containing N-unsubstituted heterocyclic moieties and study of their anticancer activity // *Russian Chemical Bulletin*. 2019. – T. 68. – № 5. – C. 1006–1013.
177. Ivanenkov Y.A., Kukushkin M.E., Beloglazkina A.A., Shafikov R.R., Barashkin A.A., Ayginin A.A., Serebryakova M.S., Majouga A.G., Skvortsov D.A., Tafeenko V.A., Beloglazkina E.K. Synthesis and Biological Evaluation of Novel Dispiro-Indolinones with Anticancer Activity // *Molecules*. MDPI, 2023. – T. 28. – № 3. – C. 1325.
178. Barashkin A.A., Polyakov V.S., Shikut N.L., Putilova A.D., Gorovoy A.R., Degtiarev A.D., Tafeenko V.A., Tarasevich B.N., Zyk N. V., Beloglazkina E.K. Diastereoselective cycloaddition of isatin azomethine ylides to 5-arylidene-2-thiohydantoins bearing 3-positioned chiral substituent // *Mendeleev Communications*. 2022. – T. 32. – № 2. – C. 221–223.
179. Ivanenkov Y.A., Vasilevski S. V., Beloglazkina E.K., Kukushkin M.E., Machulkin A.E., Veselov M.S., Chufarova N. V., Chernyaginab E.S., Vanzcool A.S., Zyk N. V., Skvortsov D.A., Khutorenko A.A., Rusanov A.L., Tonevitsky A.G., Dontsova O.A., Majouga A.G. Design, synthesis and biological evaluation of novel potent MDM2/p53 small-molecule inhibitors // *Bioorg. Med. Chem. Lett. Elsevier Ltd*, 2015. – T. 25. – № 2. – C. 404–409.
180. Kukushkin M., Novotortsev V., Filatov V., Ivanenkov Y., Skvortsov D., Veselov M., Shafikov R., Moiseeva A., Zyk N., Majouga A., Beloglazkina E. Synthesis and Biological Evaluation of S-, O- and Se-Containing Dispirooxindoles // *Molecules*. 2021. – T. 26. – № 24. – C. 7645.

181. Kukushkin M.E., Kondratieva A.A., Karpov N.A., Shybanov D.E., Tafeenko V.A., Roznyatovsky V.A., Grishin Y.K., Moiseeva A.A., Zyk N. V., Beloglazkina E.K. [3+2]-Cycloaddition of azomethine ylides to 5-methylidene-3-aryl-2-chalcogen-imidazolones: access to dispiro indolinone-pyrrolidine-imidazolones // *R. Soc. Open Sci.* 2022. – T. 9. – № 3.
182. Degtiarev A.D., Barashkin A.A., Grishin Y.K., Roznyatovsky V.A., Tafeenko V.A., Tarasenko E.A., Beloglazkina E.K. Synthesis of Chiral Dispiro-indolinone-pyrrolidine-rhodanines Using (R)/(S)-1-(2,4-dimethoxyphenyl)ethylamine // *ChemistrySelect.* 2025. – T. 10. – № 25.
183. Petrova J. V., Kukushkin M.E., Beloglazkina E.K. 1,3-Dipolar Cycloaddition of Nitrile Imines and Nitrile Oxides to Exocyclic C=N Bonds—An Approach to Spiro-N-Heterocycles // *Int. J. Mol. Sci.* 2025. – T. 26. – № 17. – C. 8673.
184. Shybanov D.E., Grishin Y.K., Roznyatovsky V.A., Yarovaya O.I., Zarubaev V. V., Niukalova M.A., Garshinina A. V., Salakhutdinov N.F., Zyk N. V., Beloglazkina E.K. Synthesis, Structure, and Antiviral Activity of Camphene-Based Spiroisoxazolines // *ChemistrySelect.* 2025. – T. 10. – № 34. – C. e03734.
185. Spirooxindole: chemistry, synthesis, characterization and biological significance. Elsevier, 2024.
186. Beutick S.E., Vermeeren P., Hamlin T.A. The 1,3-Dipolar Cycloaddition: From Conception to Quantum Chemical Design // *Chem. Asian J.* 2022. – T. 17. – № 17. – C. e202200553.
187. Guo R., Jiang J., Hu C., Liu L.L., Cui P., Zhao M., Ke Z., Tung C.-H., Kong L. BNN-1,3-dipoles: isolation and intramolecular cycloaddition with unactivated arenes // *Chem. Sci.* 2020. – T. 11. – № 27. – C. 7053–7059.
188. Zhu M., Han Y., Liu C., Ma W., Yan C.-G. 1,3-Dipolar cycloaddition for selective synthesis of functionalized spiro[indoline-3,3'-pyrrolizines] // *Chinese Chemical Letters.* 2020. – T. 31. – № 6. – C. 1554–1557.
189. Yuan H., Lu D., Liang C., Mo D. Synthesis of Spirooxindole-Benzo[d]oxazoles and Dihydrobenzofurans through Cycloaddition and Rearrangement of *N*-Vinyl Nitrones and Arynes // *Adv. Synth. Catal.* 2022. – T. 364. – № 8. – C. 1409–1414.
190. Lu C., Dubrovskiy A. V., Larock R.C. Synthesis of Benzisoxazolines by the Coupling of Arynes with Nitrones // *J. Org. Chem.* 2012. – T. 77. – № 5. – C. 2279–2284.
191. Luo Z., Wang Z., Yao W. DABCO-Catalyzed [3+2] Cycloaddition of Isatin-Derived Nitrones and Electron-Deficient Dienes via a 1,6-Addition Reaction // *Synthesis (Stuttg).* 2022. – T. 54. – № 19. – C. 4339–4346.

192. Panda S.S., Aziz M.N., Stawinski J., Girgis A.S. Azomethine Ylides—Versatile Synthons for Pyrrolidiny-Heterocyclic Compounds // *Molecules*. 2023. – T. 28. – № 2. – C. 668.
193. Zhou T., Zhang X., Sheng Y.J., Zhan D., Zhang W. Recent Developments in Azomethine Ylide-Initiated Double Cycloadditions // *Molecules*. 2025. – T. 30. – № 19. – C. 4019.
194. Dubey S., Pal A., Roy S., Sasmal S., Tamrakar A., Jana R., Das T. Recent advances in the (3+2) cycloaddition of azomethine ylide // *New Journal of Chemistry*. 2023. – T. 47. – № 19. – C. 8997–9034.
195. Zhang X., Ma X., Qiu W., Awad J., Zhang W. Double [3 + 2] cycloadditions for diastereoselective synthesis of spirooxindole pyrrolizidines // *Green Processing and Synthesis*. 2022. – T. 11. – № 1. – C. 1128–1135.
196. Ryu H., Seo J., Ko H.M. Synthesis of Spiro[oxindole-3,2'-pyrrolidine] Derivatives from Benzyne and Azomethine Ylides through 1,3-Dipolar Cycloaddition Reactions // *J. Org. Chem*. 2018. – T. 83. – № 22. – C. 14102–14109.
197. Chen H., Xu H., He Z.-Y., Zou P., Huang F.-H., Jin Y., Zhang Z. N-Iodosuccinimide-Promoted Selective Construction of Cyclopropyl and Dihydrofuranyl Spirooxindoles from Alkylidene Oxindoles and Annular β -Dicarbonyl Compounds // *Synthesis (Stuttg)*. 2022. – T. 54. – № 10. – C. 2423–2432.
198. Alshahrani S., Al-Majid A., Alamarly A., Ali M., Altowyan M., Ríos-Gutiérrez M., Yousuf S., Barakat A. Synthesis and Characterization of New Spirooxindoles Including Triazole and Benzimidazole Pharmacophores via [3+2] Cycloaddition Reaction: An MEDT Study of the Mechanism and Selectivity // *Molecules*. 2023. – T. 28. – № 19. – C. 6976.
199. Yan L., Wu X., Zhang Y., Sankaran M., Xu L., Ling L., Wang Y., Jiang Y., Ma J., Kong L. An expedient multi-component synthesis of pyridinyl-spirooxindoles and their effect on proliferation of lung cancer A549 cells // *J. Heterocycl. Chem*. 2020. – T. 57. – № 11. – C. 4044–4056.
200. Du Y., Liu Y., Guo H., Liu R., Zhou R. Chemo- and Diastereoselective Synthesis of Spirooxindole-pyrazolines and Pyrazolones via $P(NMe_2)_3$ -Mediated Substrate-Controlled Annulations of Azoalkenes with α -Dicarbonyl Compounds // *Org. Lett*. 2023. – T. 25. – № 26. – C. 4776–4781.
201. Liu R., Liu J., Cao J., Li R., Zhou R., Qiao Y., Gao W.-C. Chemo- and Diastereoselective Synthesis of Pyrrolidines from Aroylformates and δ -Tosylamino Enones via $P(NMe_2)_3$ -

- Mediated Reductive Amination/Base-Catalyzed Michael Addition Cascade // *Org. Lett.* 2020. – T. 22. – № 17. – C. 6922–6926.
202. Warghude P.K., Bhowmick A., Bhat R.G. Direct access to spirooxindole dihydropyrrole fused pyrazolones and bis-spiropyrazolone derivatives // *Tetrahedron Lett.* 2022. – T. 97. – C. 153791.
203. Altowyan M., Soliman S., Haukka M., Al-Shaalan N., Alkharboush A., Barakat A. [3+2] Cycloaddition Reaction for the Stereoselective Synthesis of a New Spirooxindole Compound Grafted Imidazo[2,1-b]thiazole Scaffold: Crystal Structure and Computational Study // *Crystals (Basel)*. 2021. – T. 12. – № 1. – C. 5.
204. Izmet'sev A.N., Streltsov A.A., Kravchenko A.N., Gazieva G.A. 5-Arylmethylidene-2-iminothiazolidin-4-ones in the synthesis of novel dispiro-fused oxindolepyrrolidineiminothiazolidinones // *Chem. Heterocycl. Compd. (N. Y.)*. 2023. – T. 59. – № 4–5. – C. 309–316.
205. de Silva N.H., Dahdah A., Blanch E.W., Hügel H.M., Maniam S. Regioselective pyrrolizidine bis-spirooxindoles as efficient anti-amyloidogenic agents // *Eur. J. Med. Chem.* 2022. – T. 240. – C. 114566.
206. Sharma R., Yadav L., Nasim A.A., Yadav R.K., Chen R.H., Kumari N., Ruiqi F., Sharon A., Sahu N.K., Ippagunta S.K., Coghi P., Wong V.K.W., Chaudhary S. Chemo-/Regio-Selective Synthesis of Novel Functionalized Spiro[pyrrolidine-2,3'-oxindoles] under Microwave Irradiation and Their Anticancer Activity // *Molecules*. 2023. – T. 28. – № 18. – C. 6503.
207. Izmet'sev A.N., Kravchenko A.N., Gazieva G.A. A 1,3-dipolar cycloaddition of azomethine ylides to imidazo[4,5-e]thiazolo[2,3-c][1,2,4]triazine oxindolylidene derivatives in the synthesis of novel spirooxindole derivatives // *Chem. Heterocycl. Compd. (N. Y.)*. 2023. – T. 59. – № 8. – C. 594–603.
208. Zhan D., Yao B., Huan C., Lu J., Ji Y., Zhang X. A step-economical and diastereoselective synthesis of dispirooxindole-pyrrolizines bearing seven stereocenters // *Tetrahedron Lett.* 2023. – T. 126. – C. 154638.
209. Huang Z., Lin J., Li M., Zhou Y.-G., Yu Z. Zinc(II)-Catalyzed [2+2+1] Annulation of Internal Alkenes, Diazooxindoles, and Isocyanates to Access Spirooxindoles // *Org. Lett.* 2023. – T. 25. – № 13. – C. 2328–2332.

210. Elinson M.N., Ryzhkova Yu.E., Ryzhkov F. V., Kalashnikova V.M., Egorov M.P. Modern electro-synthesis of spiro compounds // *Russian Chemical Bulletin*. 2024. – T. 73. – № 7. – C. 1845–1865.
211. Levine A.J. Targeting the P53 Protein for Cancer Therapies: The Translational Impact of P53 Research // *Cancer Res*. 2022. – T. 82. – № 3. – C. 362–364.
212. Afanasenkova T.E., Samorodskaya I.V., Oynotkinova O.Sh., Nikonov E.L. Regional trends in gastrointestinal tract cancer mortality in Russia for 2019—2021 // *Russian Journal of Evidence-Based Gastroenterology*. 2023. – T. 12. – № 2. – C. 15.
213. Wu D., Prives C. Relevance of the p53–MDM2 axis to aging // *Cell Death Differ*. 2018. – T. 25. – № 1. – C. 169–179.
214. Hou H., Sun D., Zhang X. The role of MDM2 amplification and overexpression in therapeutic resistance of malignant tumors // *Cancer Cell Int*. 2019. – T. 19. – № 1. – C. 216.
215. Wang W., Zhu X., Hong X., Zheng L., Zhu H., Hu Y. Identification of novel inhibitors of p53–MDM2 interaction facilitated by pharmacophore-based virtual screening combining molecular docking strategy // *Medchemcomm*. 2013. – T. 4. – № 2. – C. 411.
216. Saha T., Kar R.K., Sa G. Structural and sequential context of p53: A review of experimental and theoretical evidence // *Progress in Biophysics and Molecular Biology*. Elsevier Ltd, 2015. – T. 117. – № 2–3. – C. 250–263.
217. Organic Chemistry in Russian Universities: Achievements of recent years // *Russian Journal of Organic Chemistry*. 2024. – T. 60. – № 2–3. – C. 170–396.
218. The chemistry of heterocycles in the 21st century // *Russian Chemical Reviews*. 2024. – T. 93. – № 7. – C. RCR5125.
219. Kütt A., Selberg S., Kaljurand I., Tshepelevitsh S., Heering A., Darnell A., Kaupmees K., Piirsalu M., Leito I. pKa values in organic chemistry – Making maximum use of the available data // *Tetrahedron Lett*. 2018. – T. 59. – № 42. – C. 3738–3748.
220. Mayence A., Vanden Eynde J.J., Kaiser M., Brun R., Yarlett N., Huang T.L. Bis(oxyphenylene)benzimidazoles: A novel class of anti-Plasmodium falciparum agents // *Bioorg. Med. Chem*. 2011. – T. 19. – № 24. – C. 7493–7500.
221. Kuznetsova O.Y., Antipin R.L., Udina A. V., Krasnovskaya O.O., Beloglazkina E.K., Terenin V.I., Koteliansky V.E., Zyk N. V., Majouga A.G. An Improved Protocol for Synthesis of 3-

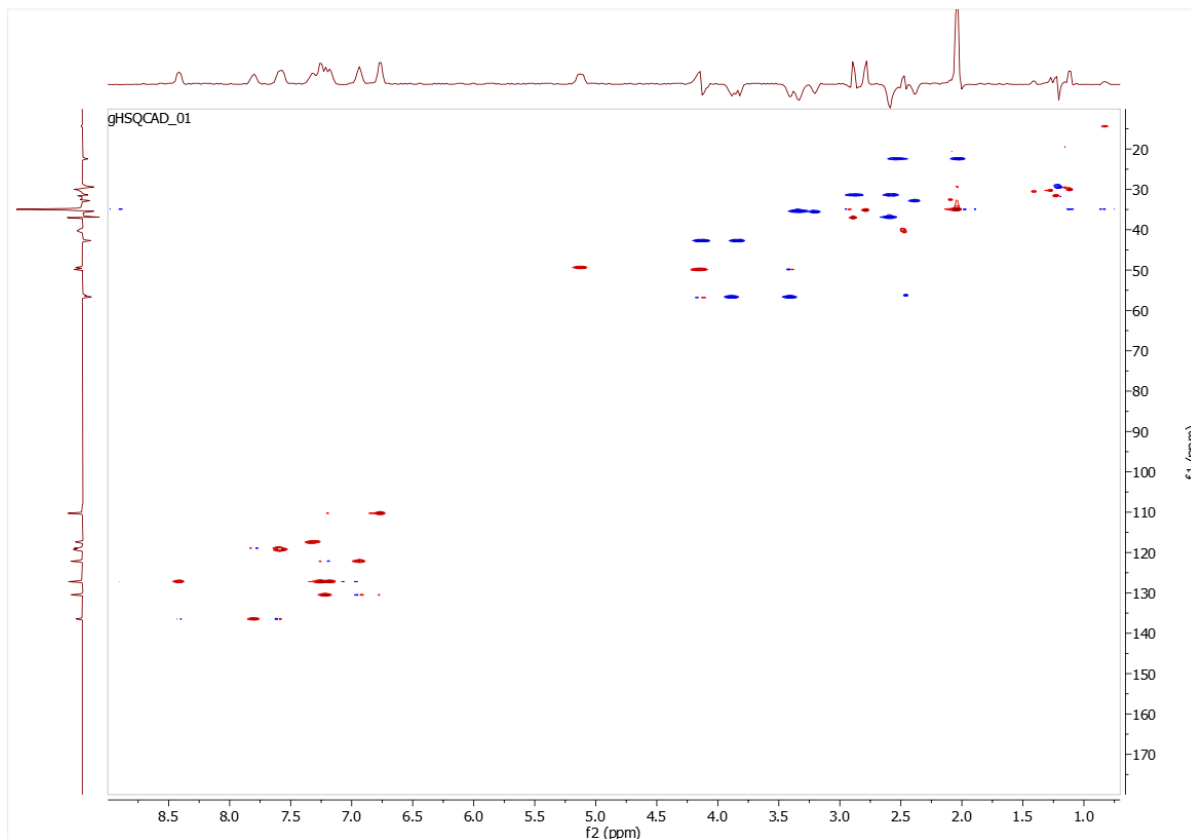
- Substituted 5-Arylidene-2-thiohydantoin: Two-step Procedure Alternative to Classical Methods // *J. Heterocycl. Chem.* 2016. – T. 53. – № 5. – C. 1570–1577.
222. Martínez-López D., Yu M.-L., García-Iriepa C., Campos P.J., Frutos L.M., Golen J.A., Rasapalli S., Sampedro D. Hydantoin-Based Molecular Photoswitches // *J. Org. Chem.* 2015. – T. 80. – № 8. – C. 3929–3939.
223. Lugovoi M.E., Izmet's'ev A.N., Kolotyrkina N.G., Izmalkova E.S., Kravchenko A.N., Gazieva G.A. Synthesis of new heterylmethylidene derivatives of isomeric imidazo[4,5-e]thiazolo-fused [1,2,4]triazines // *Mendeleev Communications.* 2024. – T. 34. – № 4. – C. 558–560.
224. Rana S., Kour S., Kizhake S., King H.M., Mallareddy J.R., Case A.J., Huxford T., Natarajan A. Dimers of isatin derived α -methylene- γ -butyrolactone as potent anti-cancer agents // *Bioorg. Med. Chem. Lett.* 2022. – T. 65. – C. 128713.
225. Singh A., Nisha N., Bains T., Hahn H.J., Liu N., Tam C., Cheng L.W., Kim J., Debnath A., Land K.M., Kumar V. Design, synthesis and preliminary antimicrobial evaluation of N-alkyl chain-tethered C-5 functionalized bis-isatins // *Med. Chem. Commun.* 2017. – T. 8. – № 10. – C. 1982–1992.
226. Anifowose A., Agbowuro A.A., Yang X., Wang B. Anticancer strategies by upregulating p53 through inhibition of its ubiquitination by MDM2 // *Medicinal Chemistry Research.* Springer, 2020. – T. 29. – № 7. – C. 1105–1121.
227. Wan H., Williams R., Doherty P., Williams D.F. A study of the reproducibility of the MTT test // *J. Mater. Sci. Mater. Med.* 1994. – T. 5. – № 3. – C. 154–159.
228. Guzelj S., Weiss M., Slütter B., Frkanec R., Jakopin Ž. Covalently Conjugated NOD2/TLR7 Agonists Are Potent and Versatile Immune Potentiators // *J. Med. Chem.* 2022. – T. 65. – № 22. – C. 15085–15101.
229. Lu Y., Sun D., Xiao D., Shao Y., Su M., Zhou Y., Li J., Zhu S., Lu W. Design, Synthesis, and Biological Evaluation of HDAC Degradable CRBN E3 Ligase Ligands // *Molecules.* 2021. – T. 26. – № 23. – C. 7241.
230. Shevalev R., Bischof L., Sapegin A., Bunev A., Olga G., Kantin G., Kalinin S., Hartmann M.D. Discovery and characterization of potent spiro-isoxazole-based cereblon ligands with a novel binding mode // *Eur. J. Med. Chem. Elsevier Masson SAS,* 2024. – T. 270. – № December 2023. – C. 116328.

231. Wanner M.J., Koomen G.J. 2-Substituted Glutarimides via Preformed Wittig Reagents // *Synthesis (Stuttg)*. 1988. – T. 1988. – № 04. – C. 325–327.
232. Dai H., Liu G., Zhang X., Yan H., Lu C. Pyrrolylmethyl Functionalized *o*-Carborane Derivatives // *Organometallics*. 2016. – T. 35. – № 10. – C. 1488–1496.
233. Post E.A.J., Fletcher S.P. Controlling the Kinetics of Self-Reproducing Micelles by Catalyst Compartmentalization in a Biphasic System // *J. Org. Chem.* 2019. – T. 84. – № 5. – C. 2741–2755.
234. Wolfram S., Würfel H., Habenicht S.H., Lembke C., Richter P., Birckner E., Beckert R., Pohnert G. A small azide-modified thiazole-based reporter molecule for fluorescence and mass spectrometric detection // *Beilstein Journal of Organic Chemistry*. 2014. – T. 10. – C. 2470–2479.
235. Williams D.B.G., Lawton M. Drying of Organic Solvents: Quantitative Evaluation of the Efficiency of Several Desiccants // *J. Org. Chem.* 2010. – T. 75. – № 24. – C. 8351–8354.
236. Tietze L.-Friedjan., Eicher Theophil., Kiedrowski G. von. *Reaktionen und Synthesen im organisch-chemischen Praktikum und Forschungslaboratorium*. G. Thieme, 1991.
237. Li Y., Nan G., Hou X., Yan Y., Yang Y., Yang Y., Li K., Xiao Z. Non-peptidic immunoproteasome $\beta 5i$ -selective inhibitor as potential treatment for idiopathic pulmonary fibrosis: Virtual screening, hit evolution and lead identification // *Eur. J. Med. Chem.* 2023. – T. 261. – C. 115856.
238. Wang S., Feng H., Li B., Lim J.Y.C., Rusli W., Zhu J., Hadjichristidis N., Li Z. Knoevenagel C=C Metathesis Enabled Glassy Vitrimers with High Rigidity, Toughness, and Malleability // *J. Am. Chem. Soc.* 2024. – T. 146. – № 23. – C. 16112–16118.
239. Hernández K., Parella T., Petrillo G., Usón I., Wandtke C.M., Joglar J., Bujons J., Clapés P. Intramolecular Benzoin Reaction Catalyzed by Benzaldehyde Lyase from *Pseudomonas Fluorescens* Biovar I // *Angew. Chem. Int. Ed.* 2017. – T. 56. – № 19. – C. 5304–5307.
240. Hassan A.Y., Sarg M.T., El Deeb M.A., El Rabeeb S.I. Anticancer Activity Screening of a Series of Imidazo[2,1-c][1,2,4]triazolone and Imidazo[1,2-b][1,2,4]triazolone Derivatives Synthesized Under Solvent Free Conditions // *ChemistrySelect*. 2020. – T. 5. – № 15. – C. 4755–4760.
241. Castagna D., Duffy E.L., Semaan D., Young L.C., Pritchard J.M., Macdonald S.J.F., Budd D.C., Jamieson C., Watson A.J.B. Identification of a novel class of autotaxin inhibitors through cross-screening // *Medchemcomm*. 2015. – T. 6. – № 6. – C. 1149–1155.

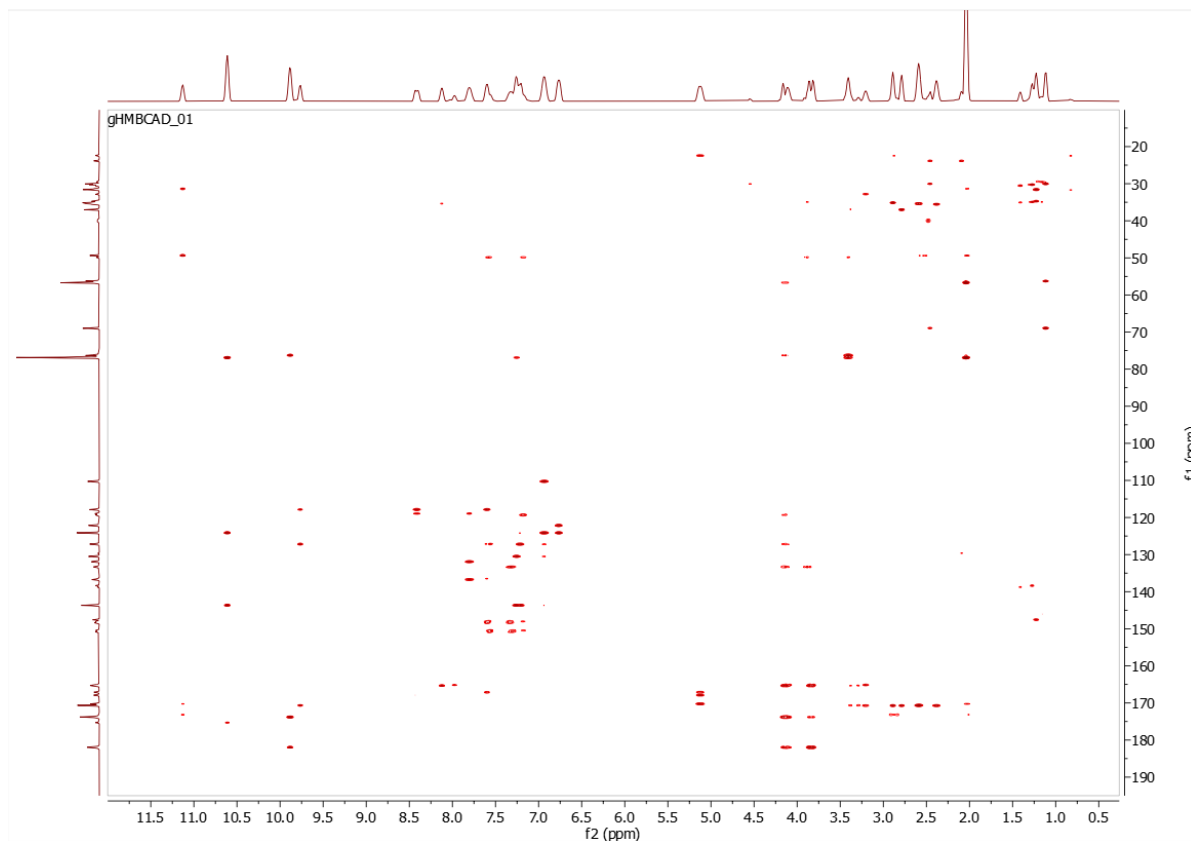
242. Sun T., Zhang G., Wang Q., Guo Z., Chen Q., Chen X., Lu Y., Zhang Y., Zhang Y., Guo Q., Gao X., Cheng Y., Jiang C. Pre-blocked molecular shuttle as an in-situ real-time theranostics // *Biomaterials*. 2019. – T. 204. – C. 46–58.

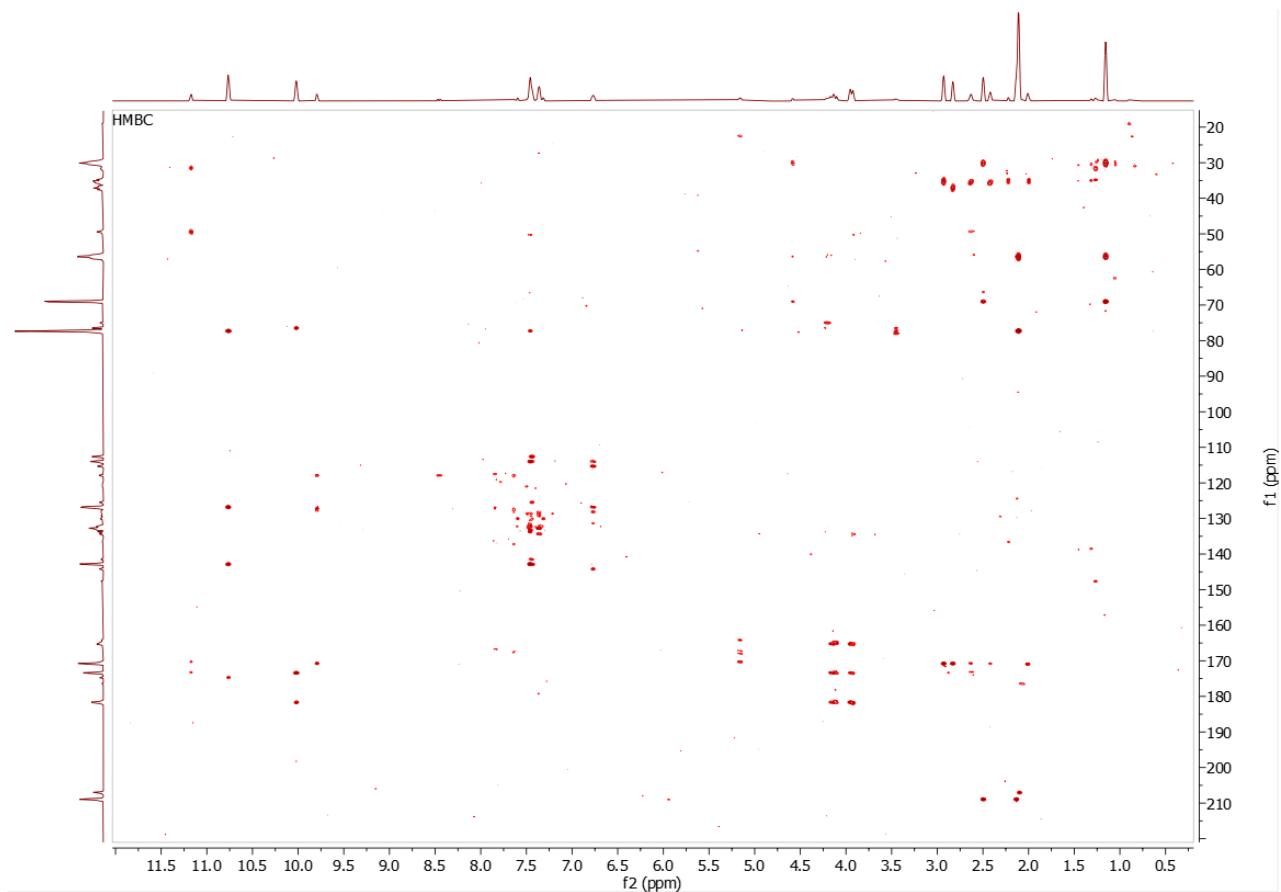
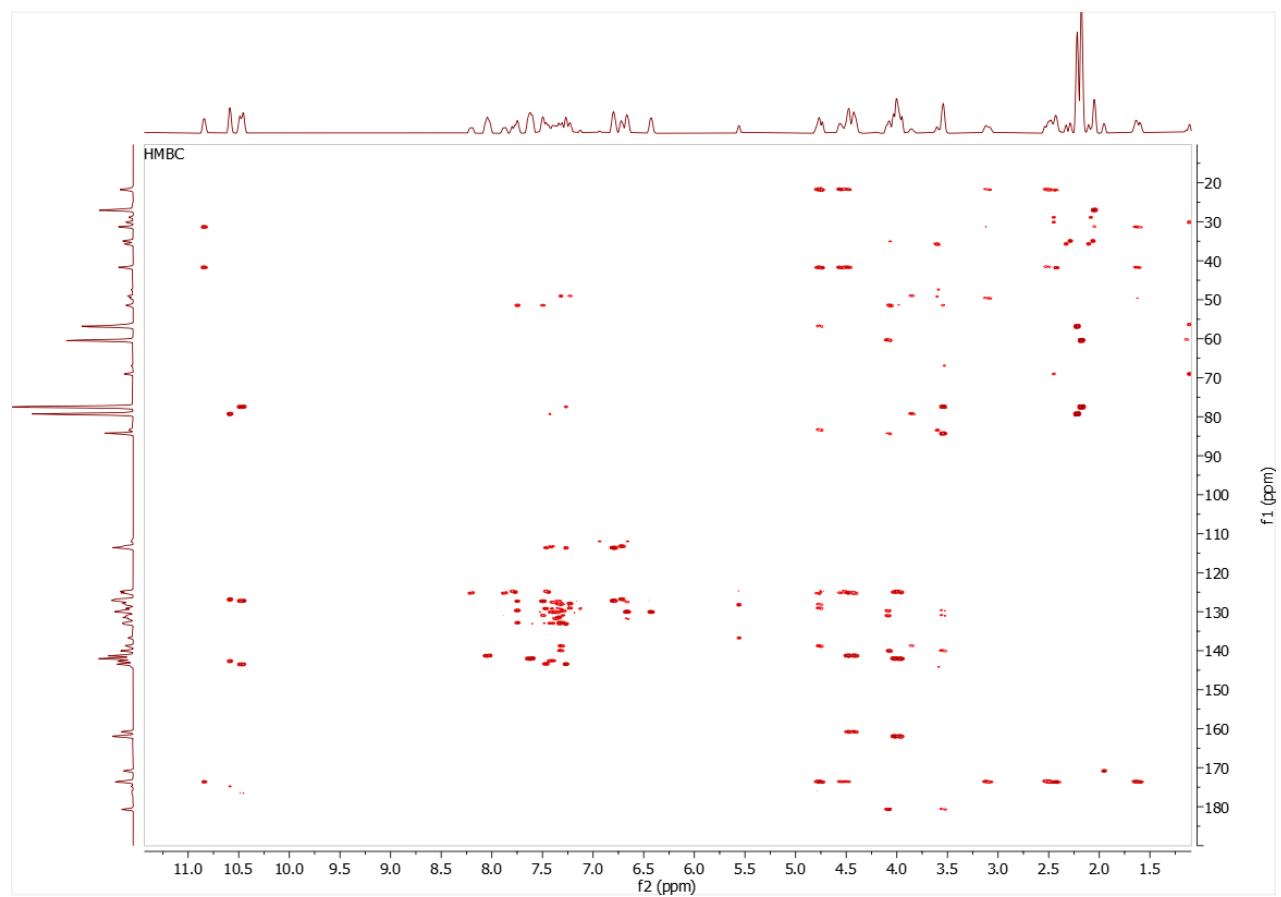
8. Приложение

HSQC ^1H - ^{13}C спектр ЯМР соединения 111

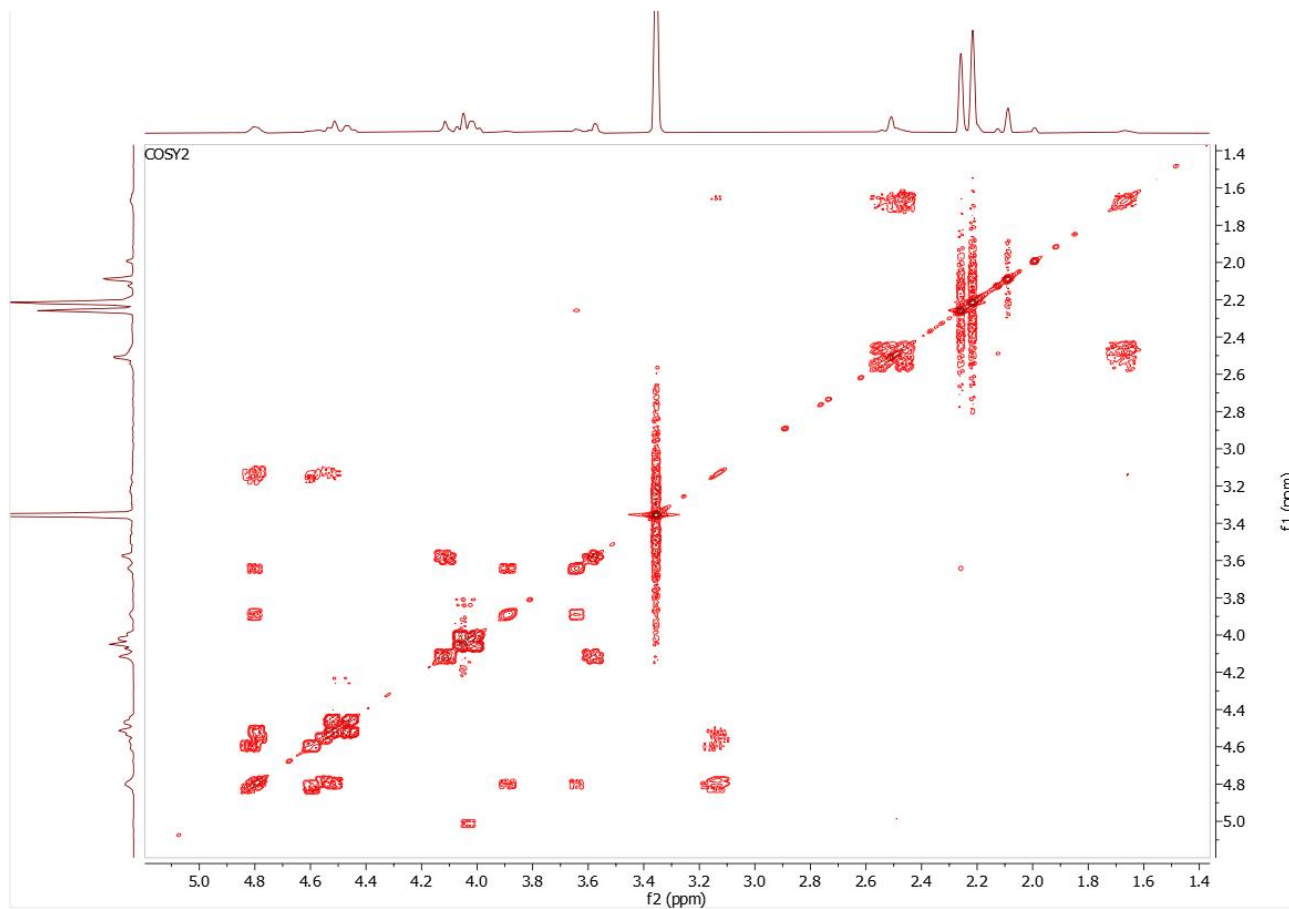


HMBC ^1H - ^{13}C спектр ЯМР соединения 111

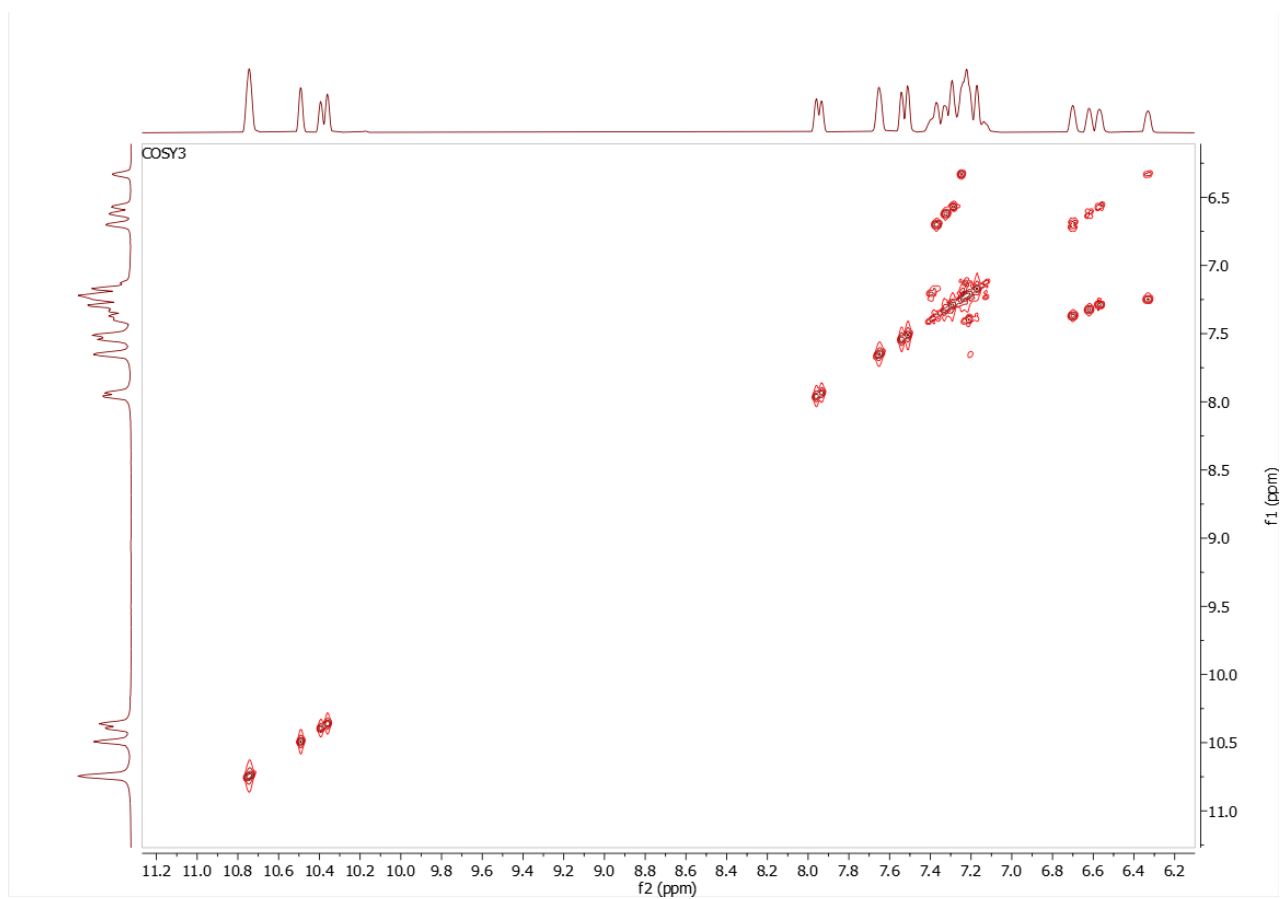


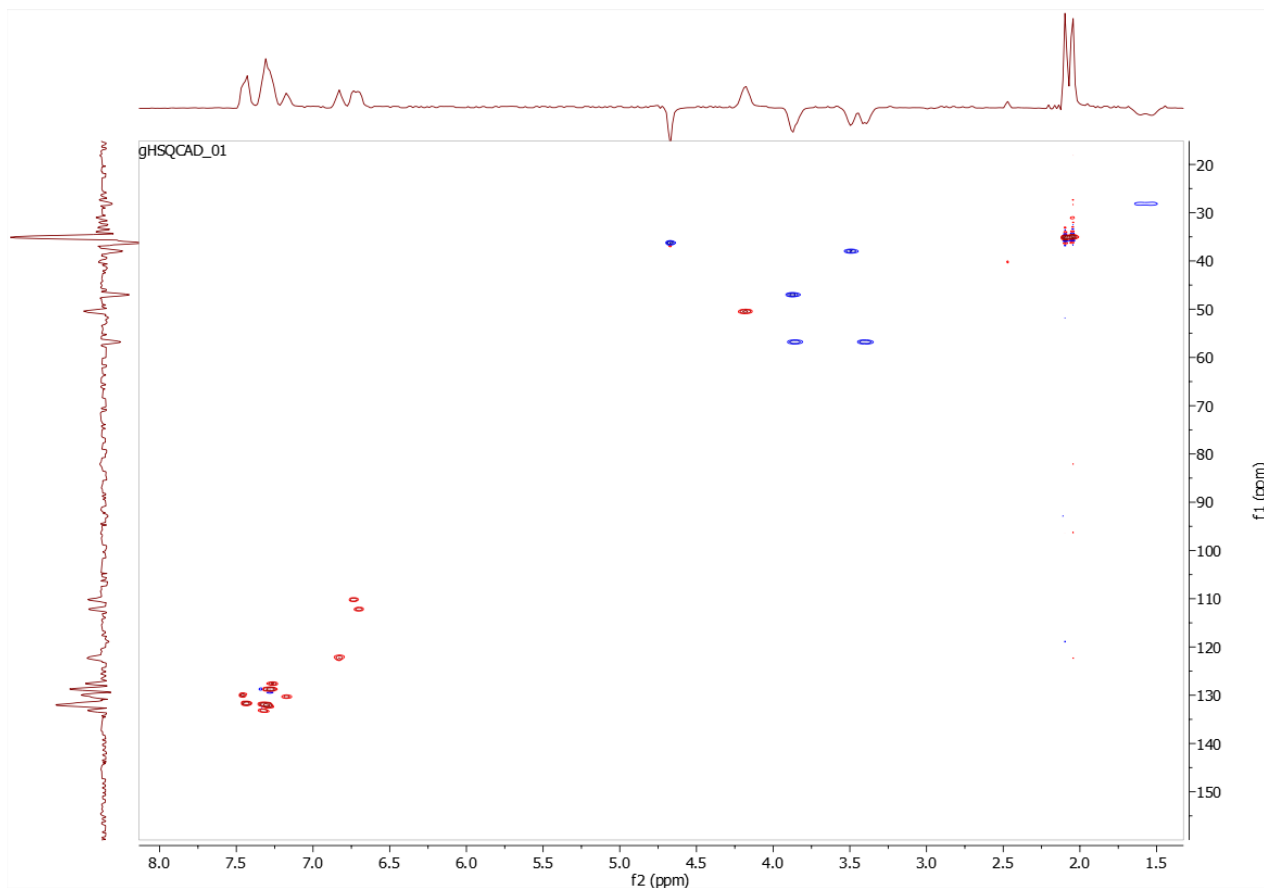
HMBC ^1H - ^{13}C спектр ЯМР соединения **110**HMBC ^1H - ^{13}C спектр ЯМР соединения **169**

Фрагмент COSY спектра ЯМР соединения 169



Фрагмент COSY спектра ЯМР соединения 169



HSQC ^1H - ^{13}C спектр ЯМР соединения **183**HMBC ^1H - ^{13}C спектр ЯМР соединения **183**